



**EFISIENSI HIDROLISIS TEPUNG KULIT UBI KAYU
MENGUNAKAN H_2SO_4 , *Trichoderma viride*
DAN *Aspergillus niger***

SKRIPSI

oleh

**Himmatul Faiqoh
NIM 121710101068**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**EFISIENSI HIDROLISIS TEPUNG KULIT UBI KAYU
MENGUNAKAN H_2SO_4 , *Trichoderma viride*
DAN *Aspergillus niger***

SKRIPSI

oleh

**Himmatul Faiqoh
NIM 121710101068**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**EFISIENSI HIDROLISIS TEPUNG KULIT UBI KAYU
MENGUNAKAN H_2SO_4 , *Trichoderma viride*
DAN *Aspergillus niger***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

oleh

**Himmatul Faiqoh
NIM 121710101068**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, yang Maha Sempurna Pertolongan-Nya;
2. Ibunda Sunisah dan Ayahhanda Abusadin tercinta, serta keluarga dan kerabat yang telah mendo'akan, memotivasi, memberi kasih sayang serta mencurahkan segala perhatian dan pengorbanan selama ini;
3. Pembimbing dan penyalur ilmuku, guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
4. Ustadz/ustadzah, kaum dhuafa, dan anak-anak yatim yang telah mengajarkan hakikat kehidupan dan sering mendo'akan penulis walaupun tanpa disadari;
5. Kakak-kakakku Nur Halimah, Siti Fatimah, Siti Khotimah, Nailil Amani, Mahroji, dan Ali Imron, serta adek-adekku Lailatul Mufidha, Moh. SabitulAzmi, Moh. Iqbal Air Langga dan Moh. Fitrah Alfajri Putra kebanggaanku yang telah memberikan motivasi dan inspirasi selama penyelesaian pendidikanku;
6. Almamater kebanggaan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

MOTTO

“Hanya kepada-Mu lah Kami beribadah dan hanya kepada-Mu lah
Kami meminta pertolongan”

(terjemahan Surat *Al-fatihah* ayat 5)

“Janganlah kamu mencari ilmu karena 3 hal: untuk berdebat, untuk dibanggakan,
karena pamrih. Dan jangan pula kamu meninggalkannya karena 3 hal:

karena malu mencarinya, karena zuhud (menjauh) darinya,
karena rela untuk tidak mengetahuinya”

(Khalifah Umar Bin Khattab)

"Keberhasilan tidak akan tercapai tanpa adanya paksaan untuk berusaha,
dan usaha akan sia-sia tanpa adanya niat, sabar dan ikhlas”

(Penulis)

“Orang berakal tidak akan bosan untuk meraih manfaat berfikir, tidak putus asa
dalam menghadapi keadaan, dan tidak pernah berhenti dari
berfikir dan berusaha”.

(Dr. Aidh Bin, Abdullah Al-Qarni)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Himmatul Faiqoh

NIM : 121710101068

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efisiensi Hidrolisis Tepung Kulit Ubi Kayu menggunakan H_2SO_4 , *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Maret 2017

Yang menyatakan,

Himmatul Faiqoh

NIM 121710101068

SKRIPSI

**EFISIENSI HIDROLISIS TEPUNG KULIT UBI KAYU
MENGUNAKAN H_2SO_4 , *Trichoderma viride*
DAN *Aspergillus niger***

oleh

Himmatul Faiqoh
NIM 121710101068

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama	: Dr. Ir. Jayus
Dosen Pembimbing Anggota	: Ir. Giyarto, M.Sc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efisiensi Hidrolisis Tepung Kulit Ubi Kayu Menggunakan H_2SO_4 , *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*” Karya Himmatul Faiqoh NIM. 121710101068 telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 13 Maret 2017

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Ir. Giyarto, M.Sc.
NIP. 196607181993031013

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota,

Dr. Nita Kuswardhani S.TP., M.Eng.
NIP. 197107311997022001

Andrew Setiawan Rusdianto S.TP., M.Si.
NIP. 198204222005011002

Mengesahkan

Dekan,

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng.
NIP 196809231994031009

RINGKASAN

Efisiensi Hidrolisis Tepung Kulit Ubi Kayu menggunakan H_2SO_4 , *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*; Himmatul Faiqoh; 121710101068; 2017; halaman 61; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Tepung kulit ubi kayu dapat dikonversi menjadi gula reduksi sebagai bahan baku sumber energi terbarukan yaitu bioetanol melalui hidrolisis. Metode hidrolisis sangat berpengaruh terhadap gula reduksi yang dihasilkan. Hidrolisis yang pernah dilakukan pada tepung kulit ubi kayu yaitu menggunakan asam dan enzim. Pengembangan metode hidrolisis yang dapat dilakukan yaitu menggunakan perlakuan awal hidrolisis asam dan mikroorganisme. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efisiensi hidrolisis tepung kulit ubi kayu menggunakan kapang *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran dengan dan tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 dalam menghasilkan gula reduksi.

Proses hidrolisis tepung kulit ubi kayu dilakukan menggunakan kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran keduanya dengan dan tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 selama 20 menit. Konsentrasi tepung dalam medium hidrolisis yang digunakan sebesar 1,5% (w/v) yang telah dipreparasi dan ditambahkan beberapa nutrisi untuk pertumbuhan kapang yaitu yeast ekstrak 0,3 g/L, $(NH_4)_2SO_4$ 0,6 g/L, *mineral salts solution* 50 ml/L dengan pengaturan pH 4,5. Hidrolisis menggunakan kapang dilakukan selama 48 jam pada suhu 30 °C dalam orbital shaker inkubator dan diamati secara periodik setiap 12 jam. Variabel pengamatan meliputi populasi kapang, kadar gula reduksi, kadar total gula terlarut, rerata derajat polimerisasi dan efisiensi hidrolisis. Data hasil penelitian diolah dengan statistika sederhana yaitu dihitung rerata dan standart deviasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar gula reduksi hasil perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 saat dilanjutkan hidrolisis oleh kapang, mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya jumlah populasi kapang hingga 48 jam

inkubasi. Hal ini berarti bahwa pada perlakuan tersebut kapang tidak menghasilkan gula reduksi, gula reduksi hanya dihasilkan pada saat hidrolisis awal menggunakan H_2SO_4 . Terjadinya penurunan gula reduksi tersebut, karena digunakan untuk pertumbuhan kapang. Kadar gula reduksi hasil hidrolisis oleh kapang tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 meningkat seiring dengan meningkatnya populasi kapang hingga 24 jam inkubasi, dan mengalami penurunan pada 36 jam hingga 48 jam inkubasi. Terjadinya peningkatan gula reduksi hingga 24 jam inkubasi, karena kapang dapat tumbuh, berkembangbiak dan menghasilkan enzim yang dapat mengkonversi komponen polisakarida dalam tepung kulit ubi kayu menjadi gula reduksi.

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa hidrolisis tepung kulit ubi kayu menggunakan kultur campuran *T. viride* dan *A. niger* tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 menghasilkan gula reduksi sebesar 3,08 g/L lebih tinggi dibandingkan menggunakan kultur tunggal baik *T. viride* sebesar 1,93 g/L maupun *A. niger* sebesar 2,01 g/L. Demikian juga efisiensi hidrolisis tepung kulit ubi kayu menghasilkan total gula terlarut sebesar 61,77% dan gula reduksi sebesar 30,46% yang diperoleh dari hidrolisis menggunakan kultur campuran *T. viride* dan *A. niger* lebih tinggi dibandingkan menggunakan kultur tunggal baik *T. viride* maupun *A. niger*.

SUMMARY

The Hydrolysis Efficiency of Cassava Peel Flour by Using H₂SO₄, *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger*; Himmatul Faiqoh; 121710101068; 2017; 52 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

The cassava peel flour could be converted to become reducing sugar as the raw material of the newest energy source, that was bioethanol by doing hydrolysis. The hydrolysis method was affected to the result of reducing sugar. The hydrolysis of cassava peel flour used acid and enzymes. The method development hydrolysis can be done using microorganisms and pretreatment of acid hydrolysis. The purpose of this research is to determine the hydrolysis efficiency of cassava peel flour by using fungus *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* and co-culture with and without pretreatment of H₂SO₄ hydrolysis to the result of reducing sugar.

The hydrolysis was conducted by using *T. viride*, *A. niger* and co-culture with and without pretreatment of H₂SO₄ hydrolysis for 20 minutes. The concentration of flour in medium hydrolysis that was used as much as 1,5% (w/v) that was prepared and added by some nutrition to be used as the fungus growth that included yeast extract 0,3 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0,6 g/L, and mineral salts solution 50 ml/L with the set of pH 4,5. The hydrolysis with fungus was done for 48 hours in the degree of 30 °C in orbital shaker incubator and was observed several parameters periodically every 12 hours, it was included the fungus population, reducing sugar concentration, total sugar concentration, the degree of polymerization and efficiency hydrolysis. The data was analyzed by basic statistics such as mean and standard deviation.

The result finding showed that reducing sugars result pretreatment of H₂SO₄ hydrolysis when the hydrolysis followed by fungus decreased by the time of the increasing of the fungus population up to 48 hours of incubation. The decreasing of reducing sugar happened because was used for the fungus growth. Reducing sugar of the hydrolysis result by fungus without pretreatment of H₂SO₄ hydrolysis increased by the the time of the increasing of the fungus population up to 24 hours

of incubation, and it was decreased at 36 hours up to 48 hours of incubation. The increasing of reducing sugar happened up to 24 hours of incubation, because the fungus could be growth, multiply and produce enzyme that could convert the component of polysaccharides in the cassava peel flour became reducing sugar.

The result showed that cassava peel flour hydrolysis by co-culture *T. viride* and *A. niger* with pretreatment of H_2SO_4 hydrolysis using sugar reduction much as 3.08% g/L was higher than using monocultur *T. viride* much as 1,93 g/L or *A. niger* much as 2,01 g/L. As well hydrolysis efficiency of cassava peel flour produce total sugar much as 61,77% and reducing sugar much as 30,46% of the hydrolysis result by co-culture *T. viride* and *A. niger* was higher than using monocultur *T. viride* or *A. niger*.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efisiensi Hidrolisis Tepung Kulit Ubi Kayu menggunakan H_2SO_4 , *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Yuli Witono, S.TP., MP., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
2. Ir. Giyarto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember sekaligus Dosen Pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi kemajuan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi;
3. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Dosen Pembimbing Akademik dan pemilik proyek penelitian, yang telah memberikan bimbingan, perhatian dalam bentuk nasihat dan teguran yang sangat berarti selama kegiatan bimbingan akademik, serta arahan selama penulisan skripsi;
4. Dr. Nita Kuswardhani S.TP., M.Eng. dan Andrew Setiawan Rusdianto S.TP., M.Si., selaku tim penguji, atas saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;
5. Ibunda Sunisah dan Ayahanda Abusadin, serta keluarga besar yang telah memberi doa dan dorongan demi terselesaikannya skripsi ini;
6. Kakakku Nailil Amani yang telah menemani peneliti selama penelitian dan memberi motivasi;
7. Seluruh karyawan dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Universitas Jember;

8. Sahabat dan teman-temanku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan dukungan dan semangat;
9. Keluarga besar Kosinusteta yang telah menjadi keluarga kedua, *I always love you all*;
10. Teman-teman Jurusan Teknologi Hasil Pertanian angkatan 2012 yang telah memberikan dukungan, semangat, serta doa dan persahabatan;
11. Rekan-rekan peneliti di Laboratorium Mikrobiologi Pangan Dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang telah mewujudkan rasa kebersamaan dan turut serta merasakan jerih payah selama penelitian;
12. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung;

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

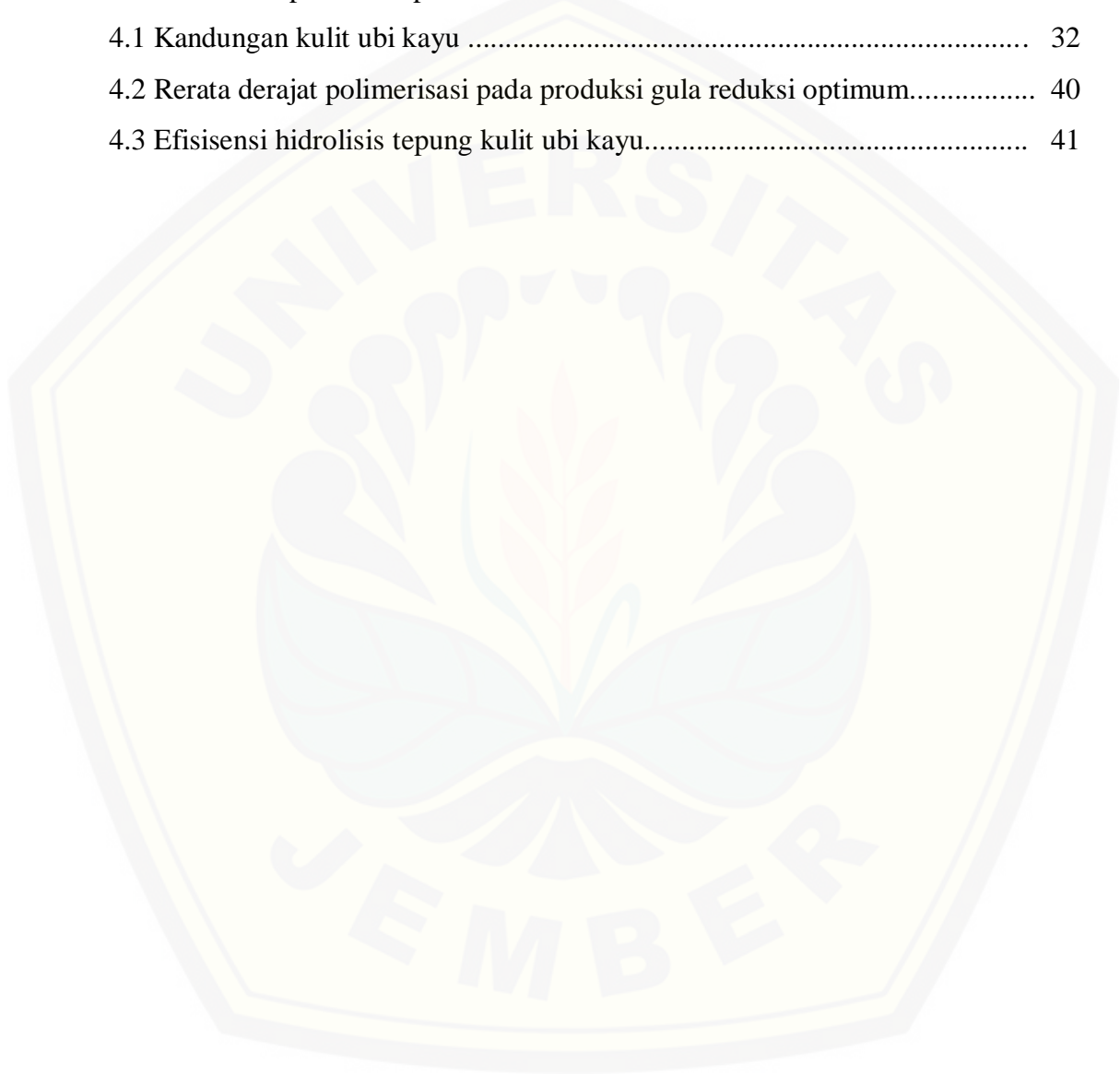
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Karakteristik dan Keunggulan Kulit Ubi Kayu.....	5
2.2 Hidrolisis.....	10
2.3 Hidrolisis Pati, Selulosa dan Hemiselulosa.....	12
2.4 Karakteristik Kapang <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma viride</i>	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian.....	19
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	19
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	19
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	19
3.3.2 Rancangan Penelitian.....	20

3.4	Variabel Pengamatan.....	26
3.5	Prosedur Analisis.....	26
3.5.1	Penentuan Kadar Air	26
3.5.2	Penentuan Kadar Pati	27
3.5.3	Penentuan Kadar Lignoselulosa.....	27
3.5.4	Penentuan Jumlah Populasi Mikroba.	28
3.5.5	Penentuan Kadar Gula Reduksi Menggunakan Metode DNS.....	29
3.5.6	Penentuan Kadar Total Gula terlarut.....	29
3.5.7	Penentuan Rerata Derajat Polimerisasi	30
3.5.8	Efisiensi Hidrolisis	30
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1	Karakteristik Tepung Kulit Ubi Kayu	32
4.2	Profil Hidrolisis oleh Kapang dengan dan Tanpa Perlakuan Awal Hidrolisis H ₂ SO ₄	33
4.3	Total Gula terlarut	38
4.4	Rerata Derajat Polimerisasi	40
4.5	Efisiensi Hidrolisis	41
BAB 5.	PENUTUP	43
5.1	Kesimpulan	43
5.2	Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....		44
LAMPIRAN.....		52

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi kimia kulit ubi kayu segar	5
3.1 Kombinasi perlakuan pada metode hidrolisis	20
4.1 Kandungan kulit ubi kayu	32
4.2 Rerata derajat polimerisasi pada produksi gula reduksi optimum.....	40
4.3 Efisiensi hidrolisis tepung kulit ubi kayu.....	41



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Struktur amilosa terbentuk melalui ikatan 1,4- α -glikosida.....	6
2.2 Struktur amilopektin terbentuk melalui ikatan 1,4 dan 1,6- α -glikosida	6
2.3 Struktur lignoselulosa	7
2.4 Struktur selulosa	7
2.5 Struktur hemiselulosa	8
2.6 Struktur gula sederhana penyusun hemiselulosa	8
2.7 Struktur lignin	9
2.8 Mekanisme hidrolisis pati menggunakan enzim	13
2.9 Proses hidrolisis selulosa dengan katalis asam	14
2.10 Mekanisme hidrolisis selulosa dengan enzim selulasae	15
2.11 Struktur kimia dan degradasi dari hemiselulosa	16
3.1 Diagram alir pembuatan tepung kulit ubi kayu	21
3.2 Diagram alir delignifikasi tepung kulit ubi kayu	22
3.3 Diagram alir penyiapan starter <i>A. niger</i> dan <i>T. viride</i>	23
3.4 Diagram alir penelitian utama	25
4.1 Perubahan jumlah gula reduksi dan populasi kapang <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> dan kultur campuran selama hidrolisis tepung kulit ubi kayu dengan perlakuan awal hidrolisis H ₂ SO ₄	34
4.2 Perubahan jumlah gula reduksi dan populasi kapang <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> dan kultur campuran selama hidrolisis tepung kulit ubi kayu tanpa perlakuan awal hidrolisis H ₂ SO ₄	36
4.3 Perubahan kadar total gula terlarut hasil hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> dan kultur campuran selama hidrolisis dengan perlakuan awal H ₂ SO ₄ dan tanpa perlakuan awal H ₂ SO ₄	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Karakteristik kulit ubikayu	53
B. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang <i>T. viride</i>, <i>A. niger</i> dan kultur campuran dengan perlakuan awal hidrolisis H₂SO₄	53
B.1 Data pengukuran populasi kapang	53
B.2 Data pengukuran kadar total gula terlarut.....	54
B.3 Data pengukuran kadar gula reduksi	56
C. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang <i>T. viride</i>, <i>A. niger</i> dan kultur campuran tanpa Perlakuan awal Hidrolisis H₂SO₄	58
C.1 Data pengukuran populasi kapang	58
C.2. Data pengukuran kadar gula total	59
C.3 Data pengukuran kadar gula pereduksi	59
D. Data Pengukuran Rerata Derajat Polimerisasi	61
D.1. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> dan kultur campuran dengan perlakuan awal hidrolisis H ₂ SO ₄	61
D.2. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> dan kultur campuran tanpa perlakuan awal hidrolisis H ₂ SO ₄	61
E. Data Pengukuran Efisiensi Hidrolisis	62
E.1. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> dan kultur campuran dengan perlakuan awal hidrolisis H ₂ SO ₄	62
E.2. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang <i>T. viride</i> , <i>A. niger</i> dan kultur campuran tanpa perlakuan awal hidrolisis H ₂ SO ₄	62

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gula reduksi merupakan karbohidrat golongan monosakarida yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku sumber energi terbarukan, salah satunya yaitu untuk produksi bioetanol. Gula reduksi untuk bioetanol masih dibuat dari bahan berpati dan bergula yang merupakan bahan pangan (Lin dan Tanaka, 2006 2006). Hal ini akan berdampak buruk bagi penyediaan bahan pangan apabila dikonversi terus menerus menjadi bioetanol karena terjadi persaingan antara penyediaan pangan dan energi. Pengembangan produksi gula saat ini beralih pada bahan yang mengandung lignoselulosa (Olofsson *et al.*, 2008). Salah satu limbah yang mengandung lignoselulosa dan cukup melimpah serta berpotensi untuk bahan baku etanol adalah kulit ubi kayu.

Kulit ubi kayu merupakan limbah utama dari hasil pengolahan ubi kayu. Menurut Obadina *et al.* (2006), kulit ubi kayu yang dihasilkan dari proses pengolahan ubi kayu berkisar $\pm 20\%$, jika dikonversikan pada produktifitas ubi kayu tahun 2015 berdasarkan data BPS (2015) sebesar 21.790.956 ton, maka menghasilkan kulit ubi kayu sebesar ± 4.3 juta ton. Tingginya kulit ubi kayu tersebut dapat dimanfaatkan untuk produk yang memiliki nilai ekonomis yang lebih tinggi seperti untuk bahan baku bioetanol. Selain ketersediaan yang melimpah kulit ubi kayu memiliki keunggulan yaitu mengandung kadar selulosa $35.86 \pm 0.92\%$; kadar hemiselulosa $27 \pm 1.26\%$; dan kadar air $4,63 \pm 0.07\%$ (Kongkiattikajorn, 2012). Kandungan polisakarida tersebut berpotensi untuk dikonversi menjadi glukosa sebagai bahan baku bioetanol.

Kendala pada produksi bioetanol dari bahan yang mengandung pati dan lignoselulosa adalah termasuk teknologi generasi kedua sehingga membutuhkan proses awal sebelum konversi menjadi bioetanol oleh kamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai penghasil enzim alkohol dehidrogenase. Perlakuan awal yang dapat dilakukan yaitu hidrolisis komponen polisakarida tepung kulit ubi kayu. Hidrolisis merupakan proses yang sangat penting untuk menghasilkan gula

reduksi yang optimal. Beberapa peneliti telah melakukan optimasi hidrolisis komponen polisakarida menggunakan asam, enzim murni maupun enzim dari mikroorganisme. Hidrolisis tepung kulit ubi kayu menggunakan H_2SO_4 0,1 M menghasilkan gula reduksi sebesar 66,28%, menggunakan campuran enzim amilase dan amiloglukosidase menghasilkan gula reduksi sebesar 70,11%. (Yoonan dan Kongkiattikajorn, 2004). Selain itu, sebagian besar sumber enzim dalam skala industri menggunakan mikroorganisme. Souza dan Magalhaes (2010), menyatakan bahwa hidrolisis menggunakan mikroorganisme memiliki keunggulan yaitu waktu produksi cepat, dapat diproduksi dalam jumlah besar, proses mudah dimodifikasi, dan tidak memerlukan tempat yang luas. Salah satu mikroorganisme utama yang mampu mendegradasi komponen polisakarida karena memiliki enzim selulolitik dan amilolitik adalah kapang.

Kapang yang sering digunakan dalam pengolahan pangan yaitu *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*. Beberapa peneliti mengatakan bahwa kapang *T. viride* mampu menghasilkan enzim selulolitik berupa endoglukanase, eksoglukanase (Juhasz *et al.*, 2003 dan Prasad, 2014) dan xylanase (Tribak *et al.*, 2002). Kapang *A. niger* mampu menghasilkan enzim amilolitik berupa amilase, glukamilase (Selvakumar *et al.*, 1996 dan Yasmeeen *et al.*, 2002) dan enzim selulolitik berupa β -glukosidase (Juhasz *et al.*, 2003 dan Prasad, 2014). Oleh sebab itu, hidrolisis kulit ubi kayu dapat memanfaatkan dua jenis kapang *T. viride* dan *A. niger*.

Hidrolisis menggunakan kapang *T. viride* dan *A. niger* secara kultur tunggal telah dilakukan oleh Kamara (2007) pada batang pisang menggunakan kapang *T. viride* menghasilkan gula reduksi sebesar 0,3014 mg/ml dan oleh Safaria *et al.* (2013) pada sabut kelapa menggunakan *A. niger* menghasilkan gula reduksi sebesar $\pm 0,014$ mg/ml. Hidrolisis menggunakan campuran kapang *T. viride* dan *A. niger* telah dilakukan sebelumnya oleh Ul-Haq *et al.* (2005) pada substrat kapas dan penelitian oleh Naufala dan Pandebesri (2015) pada substrat enceng gondok. Hasil penelitian keduanya menunjukkan bahwa kultur campuran dari 2 jenis jamur dapat meningkatkan aktifitas enzim selulase dan konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan dibandingkan dengan monokultur.

Perlakuan awal hidrolisis asam sebelum hidrolisis menggunakan kapang juga dapat meningkatkan gula reduksi seperti penelitian yang dilakukan oleh Syawala *et al.* (2013), hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisis menggunakan *T. viride* dengan perlakuan awal hidrolisis asam menghasilkan gula reduksi sebesar 2,49%; menggunakan *A. niger* sebesar 3,27% dan menggunakan kultur campuran *T. viride* dan *A. niger* sebesar 1,56% lebih tinggi dibandingkan hanya menggunakan asam sebesar 0,96%,. Penelitian lain yang dilakukan oleh Handayani dan Pandebesie (2014), menggunakan perlakuan awal asam dengan *T. viride* menghasilkan gula reduksi sebesar 20,75 mg/ml dan yang dilakukan oleh Putri dan Fachruraji (2011), menggunakan perlakuan awal asam dengan *A. niger* menghasilkan gula reduksi sebesar 23,33 mg/ml. Berdasarkan uraian tersebut gula reduksi dapat diproduksi dengan metode kombinasi perlakuan awal dan penggunaan multikultur mikroba. Salah satu teknik yang dapat dilakukan adalah metode hidrolisis menggunakan kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran dengan dan tanpa perlakuan awal hidrolisis H₂SO₄ pada substrat tepung kulit ubi kayu.

1.2 Perumusan Masalah

Metode hidrolisis merupakan proses yang sangat penting untuk menghasilkan gula reduksi yang optimal. Beberapa peneliti telah melakukan optimasi hidrolisis komponen polisakarida menggunakan asam dan enzim. Metode lain yang dapat dilakukan berdasarkan beberapa penelitian yaitu memanfaatkan mikroorganisme untuk menghidrolisis komponen polisakarida. Mikroorganisme yang berpotensi mendegradasi komponen tersebut adalah kapang *T. viride* dan *A. niger*. Penggunaan kultur campuran *T. viride* dan *A. niger* pada bahan yang mengandung polisakarida telah diteliti dan menghasilkan gula reduksi lebih tinggi dibandingkan menggunakan monokultur. Selain hal tersebut, adanya perlakuan awal hidrolisis asam sebelum hidrolisis secara mikrobiologis juga dapat meningkatkan gula reduksi. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian mengenai metode hidrolisis menggunakan *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran dengan

dan tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 pada tepung kulit ubi kayu guna optimasi produksi gula reduksi.

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

- a. mengetahui jumlah gula reduksi hasil hidrolisis tepung kulit ubi kayu menggunakan kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran dengan dan tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 sebagai bahan baku bioetanol, dan
- b. mengetahui efisiensi hidrolisis tepung kulit ubi kayu menggunakan kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran dengan dan tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 sebagai bahan baku bioetanol.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberi manfaat diantaranya yaitu:

- a. meningkatkan nilai ekonomis kulit ubi kayu, dan
- b. meningkatkan efektivitas dan efisiensi produksi gula reduksi sebagai bahan baku bioetanol dari limbah kulit ubi kayu;

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik dan Keunggulan Kulit Ubi Kayu

Kulit ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) merupakan limbah utama dari ubi kayu hasil pengolahan tapioka, tape dan panganan dasar ubi kayu lainnya. Semakin luas areal penanaman dan jumlah ubi kayu yang dipanen serta pemanfaatan yang optimal, maka semakin banyak juga limbah kulit ubi kayu yang dihasilkan. Persentase kulit ubi kayu yang dihasilkan berkisar $\pm 20\%$ dari berat umbi yang dikupas, dengan kandungan karbohidrat sekitar 50% dari kandungan karbohidrat bagian umbinya (Obadina *et al.*, 2007; Grace, 1977). Potensi nutrisi kulit ubi kayu dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Komposisi kimia kulit ubi kayu segar

Kandungan Nutrisi	%
Air	4,63 \pm 0.07.
Pati	15.82 \pm 1.84
Selulosa	35.86 \pm 0.92
Hemiselulosa	27 \pm 1.26
Lignin	12.52 \pm 0.21

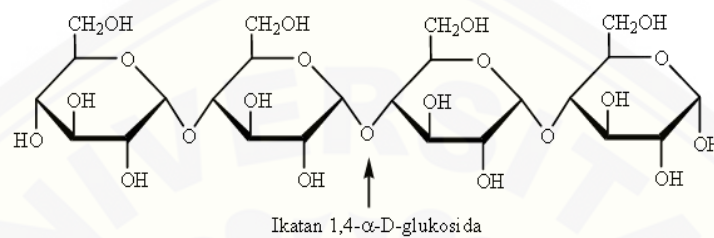
(Sumber: Kongkiattikajorn, 2012)

Kandungan polisakarida yang terdapat pada kulit ubi kayu masih tinggi. Polisakarida tersebut berupa pati dan komponen lignoselulosa seperti selulosa, hemiselulosa dan lignin (Kongkiattikajorn, 2012). Kandungan Pati dan kulit ubi kayu yang cukup tinggi, memungkinkan digunakan sebagai sumber energi bagi mikroorganisme (Muhiddin *et al.*, 2000). Berikut ini akan dijelaskan tentang polisakarida yang terdapat dalam kulit ubi kayu.

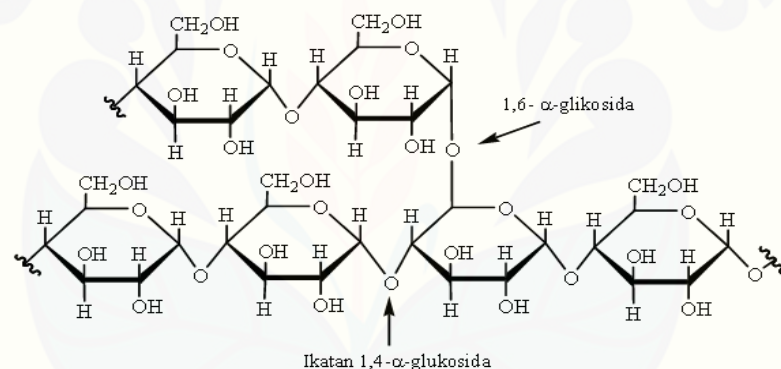
2.1.1 Pati

Pati merupakan polimer glukosa dengan rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$. Pati merupakan polisakarida yang melimpah setelah selulosa dan berfungsi sebagai penyimpan energi. Pati dapat dikelompokkan menjadi dua komponen utama berdasarkan kelarutan bila dibubur dalam air panas. Sekitar 20% pati adalah amilosa (larut) dan 80% adalah amilopektin (tidak larut) (Poedjadi, 1994).

Amilosa adalah polimer linier dari α -D-glukosa, sekitar 50 sampai 300 unit-unit glukosa yang dihubungkan antara satu dengan lainnya melalui ikatan 1,4- α -glikosida (**Gambar 2.1**). Amilopektin adalah suatu polisakarida yang jauh lebih besar daripada amilosa, mengandung \pm 1000 unit-unit glukosa. amilopektin terdiri dari rantai glukosa dengan ikatan 1,4- α -D-glikosida dan pada titik percabangan adalah 1,6- α -glikosida terdapat pada **Gambar 2.2** (Poedjadi,1994).



Gambar 2.1 Struktur amilosa terbentuk melalui ikatan 1,4- α -glikosida (Poedjadi,1994)

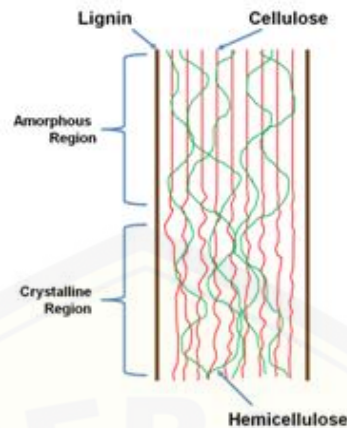


Gambar 2.2 Struktur amilopektin terbentuk melalui ikatan 1,4 dan 1,6- α -glikosida (Poedjadi,1994)

Hidrolisis lengkap dari amilosa menghasilkan D-glukosa, hidrolisis parsial menghasilkan maltosa sebagai disakarida. Hidrolisis lengkap dari amilopektin menghasilkan D-glukosa, hidrolisis parsial menghasilkan maltosa dan isomaltosa. Isomaltosa tersebut berasal dari percabangan α -1,6.

2.1.2 Biomassa Berlignoselulosa

Bahan lignoselulosa mengandung tiga komponen utama yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang terikat secara kuat. Selulosa merupakan penyusun utama dinding sel dan termasuk polimer glukosa dengan ikatan β -1,4 glukosida

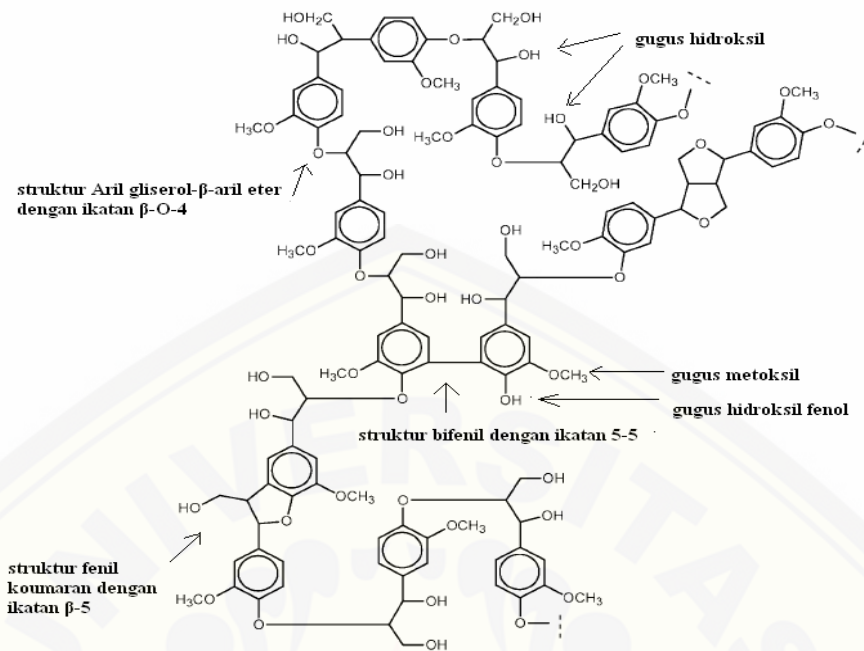


Gambar 2.3 Struktur lignoselulosa (Mosier, 2005)

dalam rantai panjang lurus. Rantai selulosa terhubung dengan ikatan hidrogen dan gaya *van der Waals* (Perez *et al.*, 2012). Hemiselulosa merupakan komponen yang paling mudah dihidrolisis karena memiliki struktur heterogen dan derajat polimerisasi yang relatif rendah. Hemiselulosa juga dapat mengikat lembaran serat selulosa membentuk mikrobiofil sehingga dapat meningkatkan stabilitas dinding sel pada tumbuhan (Widianti, 2010). Lignin merupakan komponen yang sangat sulit didegradasi karena terdiri dari polimer aromatik yang unitnya dihubungkan oleh ikatan eter dan karbon-karbon. Struktur lignoselulosa dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.

a. Lignin

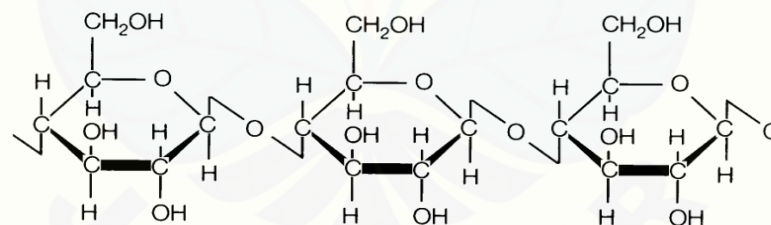
Lignin merupakan senyawa heterogen dengan berbagai tipe ikatan sehingga tidak dapat diuraikan oleh enzim hidrolisis (Hofrichter, 2002). Lignin merupakan polimer dengan struktur aromatik yang terbentuk melalui unit-unit penilpropan (Sjorberg, 2003) yang berhubungan secara bersama oleh beberapa jenis ikatan yang berbeda (**Gambar 2.7**) (Perez *et al.*, 2002). Lignin sulit didegradasi karena strukturnya yang kompleks dan heterogen yang berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa dalam jaringan tanaman. Lebih dari 30% tanaman tersusun atas lignin yang memberikan bentuk yang kokoh dan memberikan proteksi terhadap serangga dan patogen (Orth *et al.*, 1993).



Gambar 2.7 Struktur lignin (Perez *et al.*, 2002)

b. Selulosa

Selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β -1,4 glukosida dalam rantai lurus. Struktur selulosa dapat dilihat pada **Gambar 2.4**.

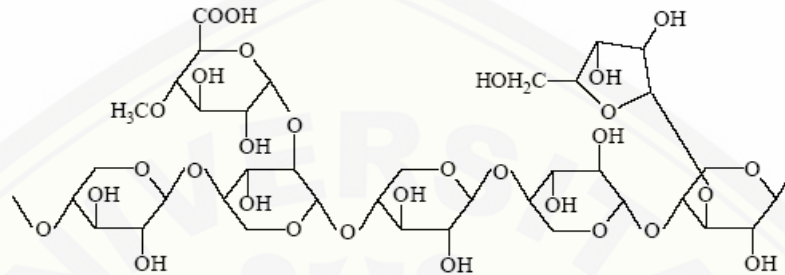


Gambar 2.4 Struktur selulosa (Sun & Cheng, 2002)

Bangun dasar selulosa berupa suatu selobiosa yaitu dimer dari glukosa. Rantai panjang selulosa terhubung secara bersama melalui ikatan hidrogen dan gaya van der Waals (Perez *et al.*, 2002). Selulosa mengandung sekitar 50 – 90% bagian berkrystal dan sisanya bagian amorf (Aziz *et al.*, 2002). Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan monomer selulosa yaitu D-glukosa, sedangkan hidrolisis parsial menghasilkan disakarida dari selulosa yang disebut selobiosa dan selooligosakarida.

c. Hemiselulosa

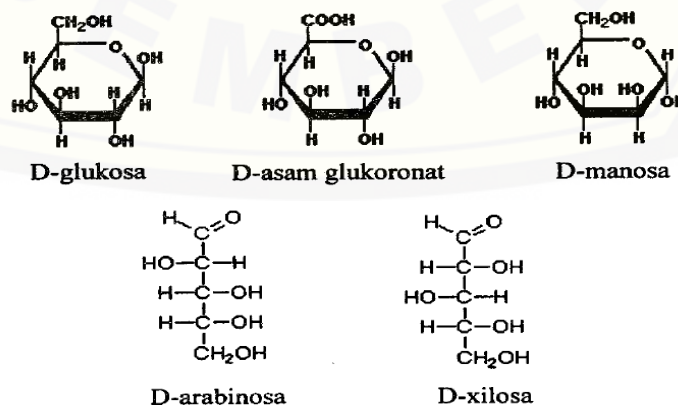
Hemiselulosa merupakan kelompok polisakarida dengan berat molekul rendah. Jumlah hemiselulosa biasanya antara 15 – 30% dari berat kering bahan lignoselulosa (Taherzadeh, 1999). Struktur hemiselulosa disajikan pada **Gambar 2.5**.



Gambar 2.5 Struktur hemiselulosa (Ibrahim, 1998)

Hemiselulosa merupakan polimer dari sejumlah sakarida-sakarida yang berbeda-beda dan tersusun tidak teratur yaitu D-xilosa, L-arabinosa, D-galaktosa, D-glukosa dan D-glukoronat (**Gambar 2.6**). Xilan merupakan karbohidrat utama penyusun hemiselulosa dan Xylanase merupakan hemiselulase utama yang menghidrolisis ikatan β -1,4 rantai xilan.

Hemiselulosa relatif lebih mudah dihidrolisis dengan asam menjadi monomer yang mengandung glukosa, mannosa, galaktosa, xilosa dan arabinosa. Hidrolisis sempurna hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentosa (C₅) dan heksosa (C₆).



Gambar 2.6 Struktur gula sederhana penyusun hemiselulosa (Zamora, 2005)

Hemiselulosa mengikat lembar-lembar selulosa membentuk mikrofibril yang meningkatkan stabilitas dinding sel tanaman. Hemiselulosa juga berikatan silang dengan lignin membentuk jaringan kompleks dan memberikan struktur yang kuat (Zhang dan Lynd, 2004).

2.2 Hidrolisis

Hidrolisis merupakan reaksi kimia yang dapat memecah molekul air (H_2O) menjadi kation hidrogen (H^+) dan anion hidroksida (OH^-) melalui suatu proses kimia. Proses ini biasanya digunakan untuk memecah polimer tertentu, terutama yang dibuat melalui polimerisasi tumbuh bertahap (*step-growth polymerization*) (Tahezadeh dan Karimi, 2007). Hidrolisis merupakan proses pemecahan polimer bahan menjadi monomer-monomer sederhana. Menurut Zamora (2005) hidrolisis karbohidrat merupakan reaksi kimia menggunakan air untuk memecah atau memutus rantai panjang polisakarida menjadi rantai-rantai pendek atau karbohidrat sederhana. Secara umum metode hidrolisis ada dua yaitu sebagai berikut.

2.2.1 Hidrolisis Kimiawi

Hidrolisis secara kimia telah banyak diaplikasikan menggunakan katalisator asam. Beberapa asam yang umum digunakan untuk hidrolisis asam antara lain adalah asam sulfat (H_2SO_4), asam perklorat, dan HCl. Asam sulfat merupakan asam yang paling banyak diteliti dan dimanfaatkan untuk hidrolisis asam. Hidrolisis asam pada dasarnya ada 2 jenis, yaitu hidrolisis pada suhu rendah dengan konsentrasi asam tinggi (*concentrated-acid hydrolysis*) dan hidrolisis pada suhu tinggi dengan konsentrasi asam rendah (*dilute-acid hydrolysis*) (Tahezadeh dan Keikhosro 2007).

Hidrolisis asam dengan konsentrasi rendah dapat dipergunakan sebagai langkah perlakuan awal (*pretreatment*) untuk proses hidrolisis secara enzimatik. Perlakuan awal hidrolisis enzimatik pada limbah lignoselulosa menggunakan H_2SO_4 0,1 – 1% pada suhu 140 – 190 °C akan dapat melemahkan ikatan-ikatan

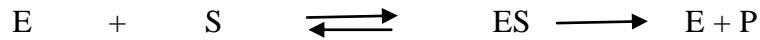
selulosa. Pretreatment dapat dilakukan selama 5 menit pada suhu 180 °C atau 30 – 90 menit pada suhu 120 °C (Tahezadeh dan Karimi, 2007).

Penggunaan H₂SO₄ dan HCl sebagai katalis dalam hidrolisis asam menghasilkan gula sederhana yang berbeda, dimana pada konsentrasi dan waktu yang sama H₂SO₄ memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan HCl. Menurut Choi dan Mathews (1996) hidrolisis pati dengan H₂SO₄ 2% selama 40 menit pada 132 °C mengakibatkan 92% bagian terkonversi menjadi glukosa, sedangkan dengan HCl pada konsentrasi, waktu dan suhu yang sama mengakibatkan 86% bagian yang terkonversi menjadi glukosa. Hal ini karena sifat HCl lebih kuat dengan reaktivitas yang tinggi daripada H₂SO₄. Berdasarkan penelitian Kongkiattikajorn (2012), pada hidrolisis biomassa lignoselulosa menggunakan H₂SO₄ 0,1 M selama 90 menit pada suhu 135 °C menghasilkan gula dengan kadar 66,28% lebih tinggi dibandingkan menggunakan HCL dan asam asetat

2.2.2 Hidrolisis Enzim

Enzim adalah satu atau beberapa gugus polipeptida atau protein yang berfungsi sebagai katalis dalam suatu reaksi kimia. Hidrolisis enzim merupakan proses penguraian suatu polimer yang kompleks menjadi monomer penyusunnya dengan menggunakan enzim (Perez *et al.*, 2002). Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain: tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif (Tahezadeh & Karimi, 2008). Menurut Hamelinck *et al.* (2005), beberapa kelemahan dari hidrolisis enzimatis antara lain adalah membutuhkan waktu yang lebih lama, dan kerja enzim dihambat oleh produk. Di sisi lain harga enzim saat ini lebih mahal daripada asam sulfat, namun demikian pengembangan terus dilakukan untuk menurunkan biaya dan meningkatkan efisiensi hidrolisis maupun fermentasi (Sanchez and Cardona, 2007).

Reaksi yang terjadi pada hidrolisis enzimatis secara sederhana ditunjukkan pada reaksi:



Pada proses ini, Interaksi antara substrat (S) dan enzim (E) akan membentuk kompleks enzim substrat (ES) dan menghasilkan produk akhir (P) (Safaria *et al.*, 2013). Hidrolisis dapat dilakukan dengan asam, perlakuan awal asam dan enzim, serta enzim dan enzim (Muthuvelayudham dan Viruthagiri, 2007; Patel *et al.*, 2007).

Ada tiga sumber enzim yaitu dari hewan, tumbuhan, dan sel mikroba. Dahulu hewan dan tumbuhan merupakan sumber enzim tradisional, namun dengan berkembangnya ilmu bioteknologi, masa depan terletak pada sistem mikrobial. Sebagian besar sumber enzim dalam skala industri adalah mikroorganisme. Beberapa alasan digunakan mikroba yaitu sistem produksi mikrobial dapat diperoleh di bawah kontrol tertutup, level/ tingkat enzim, sehingga produktivitas enzim dapat dimanipulasi secara lingkungan dan genetika. Metode pengayakan untuk sistem mikrobial cukup sederhana (Fowler, 1988).

Penggunaan enzim dari mikroorganisme lebih banyak digunakan dibandingkan dengan enzim yang berasal dari tanaman atau hewan karena mikroorganisme dapat berkembang biak dengan cepat, pertumbuhannya relatif mudah diatur, enzim yang dihasilkan tinggi sehingga ekonomis bila digunakan untuk industri. Selain itu, enzim yang berasal dari mikroorganisme lebih stabil dibandingkan enzim sejenis yang berasal dari tanaman atau hewan serta produksi enzim mikroorganisme biasanya lebih mudah dengan prosedur yang lebih sederhana dibandingkan enzim dari tanaman atau hewan (Judoamidjojo *et al.*, 1989).

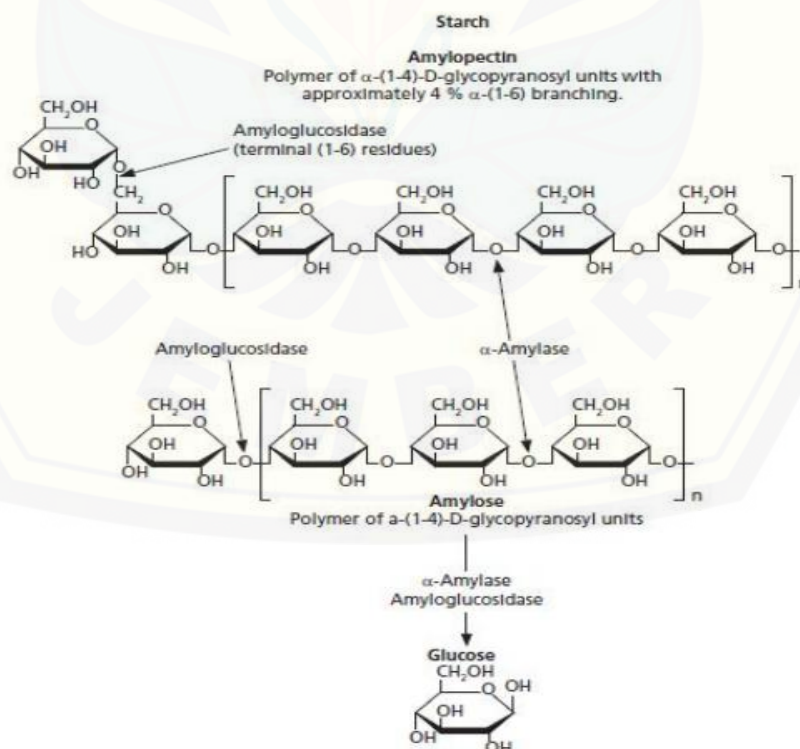
2.3 Hidrolisis Pati, Selulosa dan Hemiselulosa

Hidrolisis pati, selulosa dan hemiselulosa dapat dilakukan dengan cara asam, enzimatis atau perlakuan awal keduanya. Hidrolisis secara asam memecah komponen polisakarida secara acak. Sedangkan hidrolisis secara enzimatis

memecah polisakarida pada percabangan tertentu. Keberhasilan dalam hidrolisis tergantung pada jenis asam maupun enzim yang digunakan serta lama dan suhu yang digunakan selama hidrolisis.

2.3.1 Hidrolisis secara Asam dan Enzim pada Pati

Hidrolisis pati dapat dilakukan dengan cara hidrolisis dengan katalis asam, perlakuan awal asam dengan enzim serta kombinasi asam dengan enzim. Hidrolisis pati dengan asam memerlukan suhu yang tinggi yaitu 120 – 160 °C. Asam akan memecah molekul pati secara acak dan gula yang dihasilkan sebagian besar adalah gula pereduksi. Pada tahap pertama hidrolisis dilakukan dengan katalis asam sampai mencapai nilai derajat konversi sekitar 40 – 50%. Hidrolisis dengan kombinasi asam dan enzim akan mencapai nilai dekstrosa yang dikehendaki sebesar 62% setelah dinetralkan, dijernihkan dan dihidrolisis dengan enzim dengan memanfaatkan mikroorganisme (Judoamidjojo, 1990). Mekanisme hidrolisis pati menggunakan enzim dapat dilihat pada **Gambar 2.8**.

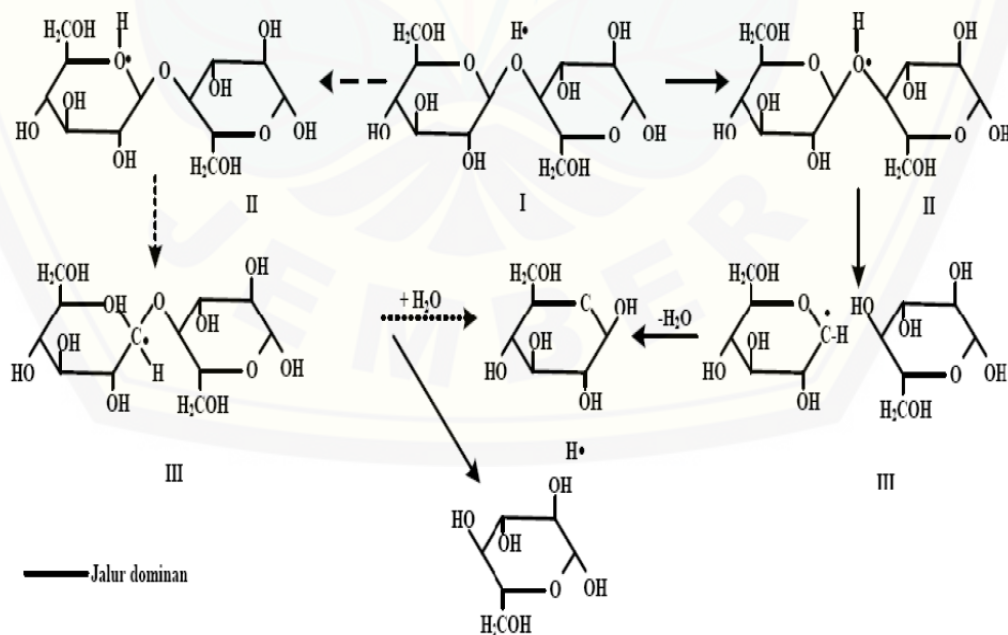


Gambar 2.8 Mekanisme hidrolisis pati menggunakan enzim (Held, 2012)

Hidrolisis pati menggunakan enzim amilase untuk memecah ikatan glukosa baik α -1,4 glikosidik maupun α -1,6 glikosidik. Amilase adalah enzim hidrolase glikosida yang mengkatalisis pemecahan pati menjadi gula.

2.3.2 Hidrolisis secara Asam dan Enzim pada Selulosa

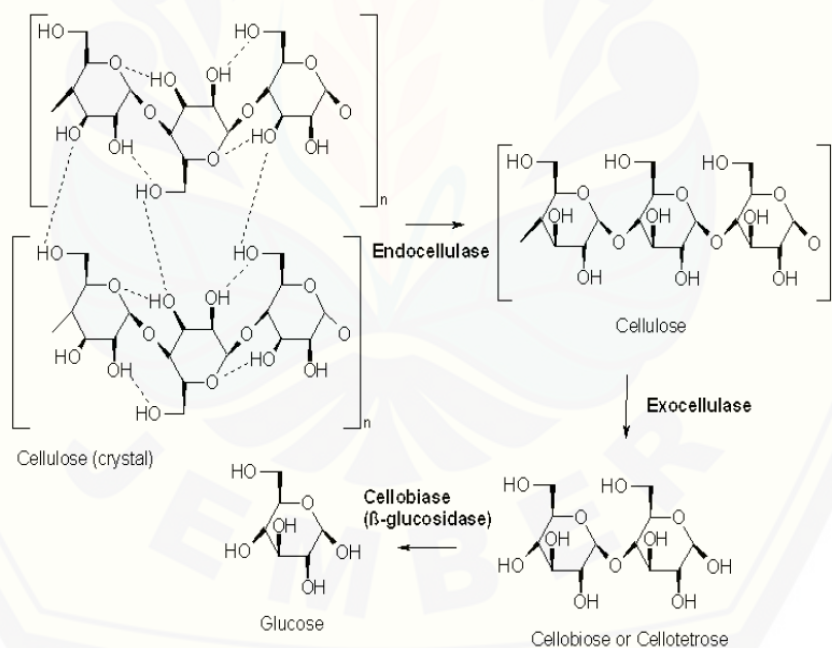
Hidrolisis selulosa menggunakan asam membutuhkan waktu dan suhu yang berbeda-beda tergantung pada konsentrasi asam yang digunakan. Penggunaan asam pekat pada proses hidrolisis selulosa dilakukan pada temperatur yang lebih rendah daripada asam encer. Konsentrasi asam yang digunakan adalah 10 – 30% dan sumber asam yang umum digunakan adalah asam sulfat. Suhu reaksi adalah 100 °C dan membutuhkan waktu reaksi antara 2 – 6 jam. Temperatur yang lebih rendah meminimalisasi degradasi gula. Keuntungan dari penggunaan asam pekat ini adalah konversi gula yang dihasilkan tinggi, yaitu data mencapai 90% (Badger, 2002). Kekurangan reaksi ini adalah waktu reaksi yang dibutuhkan lebih lama dan membutuhkan proses pencucian yang baik untuk mencapai pH reaksi sebelum ditambahkan mikroba pada proses fermentasi pembentukan etanol. Proses hidrolisis selulosa dengan katalis asam dapat dilihat pada **Gambar 2.9**.



Gambar 2.9 Proses hidrolisis selulosa dengan katalis asam (Xiang *et al.*, 2003)

Mekanisme yang terjadi yaitu proton dari asam akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosidik oksigen pada dua unit gula sehingga akan membentuk asam konjugasi. Keberadaan asam konjugasi menyebabkan konformasi tidak stabil sehingga terjadi pemutusan ikatan C-O dan membebaskan asam konjugasi pada konformasi yang tidak stabil. Keberadaan air pada sistem akan menyebabkan OH dari air berikatan dengan oksigen ikatan glikosidik pada dua unit gula yang lain. Proses tersebut terjadi secara kontinyu hingga semua molekul selulosa terhidrolisis menjadi D-glukosa (Xiang *et al.*, 2003).

Degradasi selulosa oleh fungi merupakan hasil kerja sekelompok enzim selulolitik (Howard *et al.*, 2003). enzim selulolitik terdiri dari tiga kelompok utama yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase (Lynd *et al.*, 1995; Lynd *et al.*, 2002; Perez *et al.*, 2002; Howard *et al.*, 2003). Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulolitik dapat dilihat pada **Gambar 2.10**.



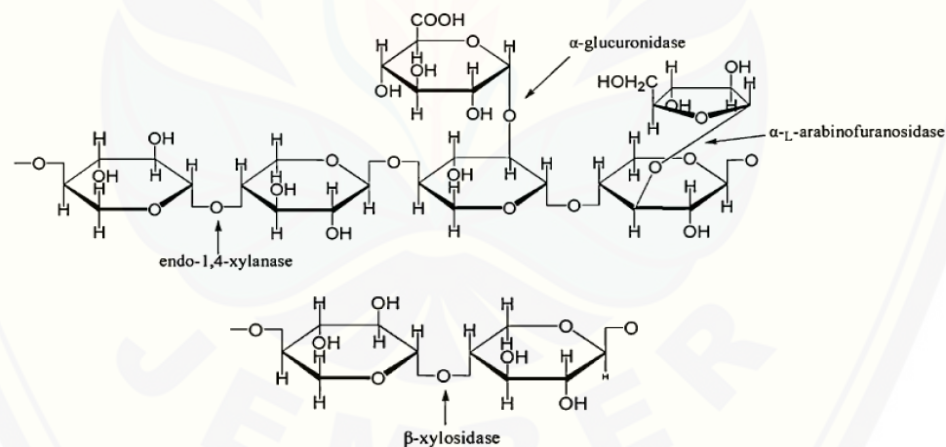
Gambar 2.10 Mekanisme hidrolisis selulosa dengan enzim selulase (Wang *et al.*, 2012)

Tahap pemecahan selulosa oleh enzim selulase yaitu, enzim endoglukanase menghidrolisis secara acak pada bagian amorf serat selulosa (Howard *et al.*, 2003) sehingga menghasilkan oligosakarida dengan panjang berbeda-beda dan terbentuknya ujung rantai baru selulosa (Lynd *et al.*, 2002).

Enzim eksoglukanase bekerja terhadap ujung-ujung rantai polisakarida tersebut dan menghasilkan selobiosa yang merupakan disakarida. Selanjutnya enzim β -glukosidase memecah selobiosa menjadi glukosa yang merupakan produk utama hidrolisis selulosa (Lynd *et al.*, 2002). Hidrolisis bagian berkrystal selulosa hanya dapat dilakukan secara efisien oleh enzim eksoglukanase (Perez *et al.*, 2002; Lynd *et al.*, 2002). Hasil kerja sinergis endoglukanase dan ekoglukanase menghasilkan molekul selobiosa. Hidrolisis selulosa secara efektif memerlukan enzim β -glukosidase yang memecah selobiosa menjadi 2 molekul glukosa (Perez *et al.*, 2002).

2.3.3 Hidrolisis Hemiselulosa

Hidrolisis asam dapat memecah hemiselulosa menjadi monomer-monomer gula (arabinosa, galaktosa, glukosa, manosa, dan xylosa) dan larutan oligomer yang meningkatkan konversi selulosa (Sun dan Cheng, 2005). Pada **Gambar 2.11** disajikan proses hidrolisis hemiselulosa dengan katalis asam.



Gambar 2.11 Struktur Kimia dan Degradasi dari Hemiselulosa (Wang *et al.*, 2012)

Hidrolisis asam pada hemiselulosa mirip dengan hidrolisis asam pada selulosa, asam mengkatalisis pemecahan rantai panjang hemiselulosa untuk membentuk oligomer rantai lebih pendek dan asam terus mendegradasi hingga terbentuk monomer gula lebih sederhana (xylosa, manosa, galaktosa, dan glukosa) (Wyman *et al.*, 2005)

2.4 Karakteristik Kapang *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*

2.4.1 Kapang *Trichoderma viride*

T. viride merupakan kelompok fungi yang memiliki karakter morfologi berupa koloni berwarna putih, hijau muda hingga hijau tua, miselium yang berseptata, bercabang, konidiofor bercabang dan cabang yang paling ujung tumbuh sel yang disebut fialida, konidia berwarna hijau cerah bergerombol menjadi satu berbentuk bola. *T. viride* mampu menghasilkan enzim selulase yang terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase (Juwaied *et al.*, 2011). Beldman *et al.* (1985) mengungkapkan bahwa *T. viride* menghasilkan 10 jenis enzim selulolitik yang bekerja secara sinergis dalam memecah material selulosa. Enzim-enzim tersebut terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Endoglukanase dapat menghidrolisis selulosa amorf yang bersifat larut secara acak. Selobiohidrolase dapat mendegradasi selulosa kristalin dan menghasilkan selobiosa dari ujung pereduksi dan non-pereduksi. Dua jenis enzim ini bekerja secara sinergis dalam mendegradasi selulosa menjadi selobiosa dan selooligosakarida pendek lainnya. β -Glukosidase menghidrolisis selobiosa dan selooligosakarida lainnya yang dihasilkan selulase menjadi glukosa.

T. viride mampu tumbuh pada suhu 20 °C – 36 °C dan mampu tumbuh optimum pada pH 5 – 5,5 dan pH 4,5 optimum memproduksi enzim (Lieckfeldt *et al.*, 1999; Juwaied *et al.*, 2011). Kondisi pH optimum untuk kapang penghasil selulase umumnya bersifat asam. Menurut Susilawati *et al.* (2002) pH optimum aktivitas enzim selulase berkisar pada pH 4,5 – 6,5. Pada umumnya enzim hanya aktif pada kisaran pH yang terbatas.

T. viride juga mampu memproduksi enzim xilanase dari substrat limbah lignoselulolitik yang kaya akan xilan. Xilanase merupakan enzim ekstraseluler yang mempunyai kemampuan menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida dan xilosa yang terkandung pada substrat (Goyal *et al.*, 2008). *T. viride* juga dapat memproduksi xilanase dari substrat kulit kedelai dan kulit kacang hijau yang sebagian besar komponen penyusunnya berupa selulosa, hemiselulosa dan lignin dengan aktivitas enzim pada substrat kulit kedelai sebesar 18,71 U/ml dan substrat kulit kacang hijau sebesar 15,57 U/ml (Windari *et al.*, 2014).

2.4.2 Kapang *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang berkemampuan baik dalam menghasilkan enzim. Suhu pertumbuhan *A.niger* pada 35 °C – 37 °C (optimum), 6 °C – 8 °C (minimum), 45 °C – 47 °C (maksimum) dan memerlukan oksigen yang cukup. Beberapa jenis enzim yang penting penerapannya dalam bidang industri pertanian yang dapat dihasilkan oleh *A. niger* adalah amilase, glukoamilase (Selvakumar *et al.*, 1996; Yasmeen *et al.*, 2002; dan Purwantari, 2004) selulase (Frasier dan Westhoff, 1981; Juhasz *et al.*, 2003 dan Prasad, 2014). pH optimum produksi enzim selulase dan glukoamilase yaitu pada pH 4,5 (Juwaied *et al.*, 2011; Silveira *et al.*, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh Acharya *et al.* (2008) menggunakan serbuk kayu sebagai substrat dekomposisi oleh *A.niger* dihasilkan aktivitas selulase tertinggi 0,1813 IU/ml pada suhu optimum 28 °C dan pH optimum 4 – 4,5.

Tiga kelompok enzim selulase yang dimiliki oleh *A. niger* yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase (Juwaied *et al.*, 2011). Produksi β -glukosidase tinggi akan tetapi endoglukanase dan eksoglukanasenya rendah (Juhasz *et al.*, 2003). Menurut Yusak (2004), enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh *A.niger* antara lain selulase, α -amilase, glukoamilase, β -glukosidase, dan xilanase. *A. niger* memerlukan mineral $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, urea, CaCl_2 , KCl dan yeast ekstrak untuk menghasilkan enzim selulase (Ul-Haq *et al.*, 2005). Nitrogen diperlukan dalam proses fermentasi karena dapat mempengaruhi aktivitas dari *A. niger*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu penelitian dimulai pada bulan Januari 2016 sampai November 2016.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan penelitian

Bahan baku dalam penelitian yaitu kulit ubi kayu jenis singkong putih yang diperoleh dari Pabrik Pengolahan Tape Gebang-Jember. Bahan kimia yang digunakan meliputi H_2SO_4 , NaOCl, dietil eter, alkohol, HCl, asam sitrat, NaOH, yeast ekstrak, $(NH_4)_2SO_4$, *mineral salt solution* (K_2HPO_4 , Na_2HPO_4 , EDTA. $Na_2 \cdot 2H_2O$, Na_2SO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$), *reagen dinitrosalisilic acid* (DNS), fenol. Kultur mikroorganisme yang digunakan adalah kapang *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

3.2.2 Alat penelitian

Alat penelitian yang digunakan yaitu alat gelas, oven (Scientific Series 2000), *hammer mill*, ayakan Tyler 60 mesh, *Laminar Air Flow* (Microtech Model V3), *colony counter* (Funke Gerber), spektrofotometer (Genesys 10 UV), autoklav \Sturdy (SA – 300VL), inkubator (Scientific Series 2000), orbital shaker inkubator (Wise Cube[®]), digital pH meter.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan dengan dua faktor yaitu metode hidrolisis (A) dan jenis kapang (B). Kombinasi perlakuan pada metode hidrolisis ini dapat dilihat pada **Tabel 3.1**.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan pada metode hidrolisis

Metode Hidrolisis	Variasi mikroorganisme	B ₁	B ₂	B ₃
	A ₁		A ₁ B ₁	A ₁ B ₂
A ₂		A ₂ B ₁	A ₂ B ₂	A ₂ B ₃

Keterangan :

A1 : Hidrolisis asam H₂SO₄ 0,1M

A2 : Tanpa hidrolisis asam H₂SO₄ 0,1M

B1 : Kapang *Trichoderma viride*

B2 : Kapang *Aspergillus niger*

B3 : Kapang *Trichoderma viride* dan *Aspergillus niger*

Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan produksi dan analisis sebanyak tiga kali. Data hasil penelitian diolah dengan deskriptif seperti rerata dan standar deviasi. Data yang diperoleh akan disajikan dalam bentuk grafik.

3.3.2 Rancangan Penelitian

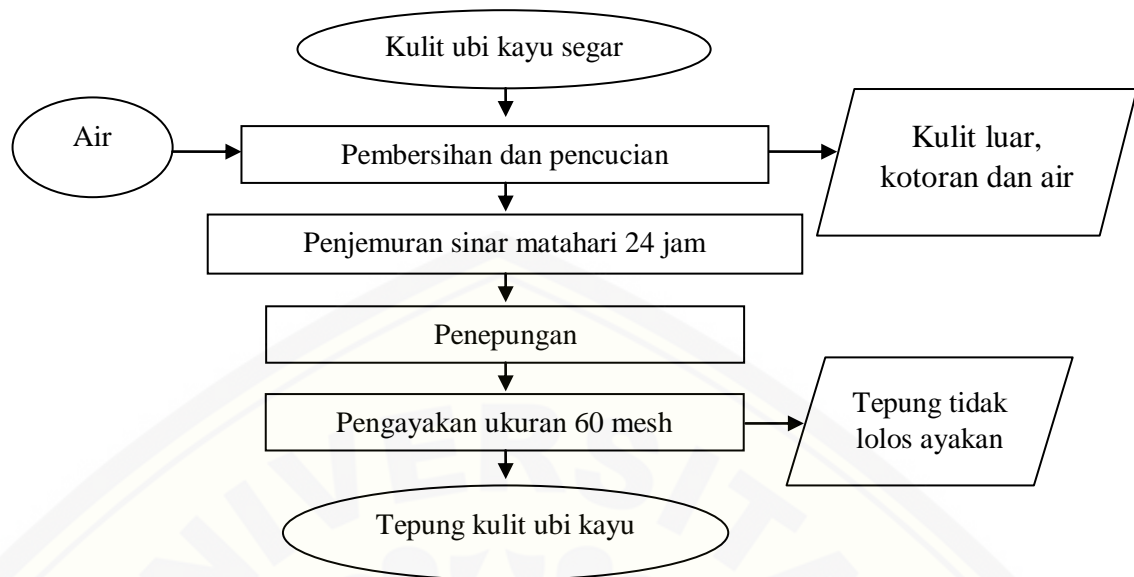
Penelitian terdiri dari tiga tahap yaitu preparasi bahan baku, penyiapan starter dan penelitian utama.

a. Preparasi bahan baku

Persiapan bahan baku terdiri dari dua tahap yaitu pembuatan tepung kulit ubi kayu dan delignifikasi atau penghilangan lignin.

1) Pembuatan tepung kulit ubi kayu

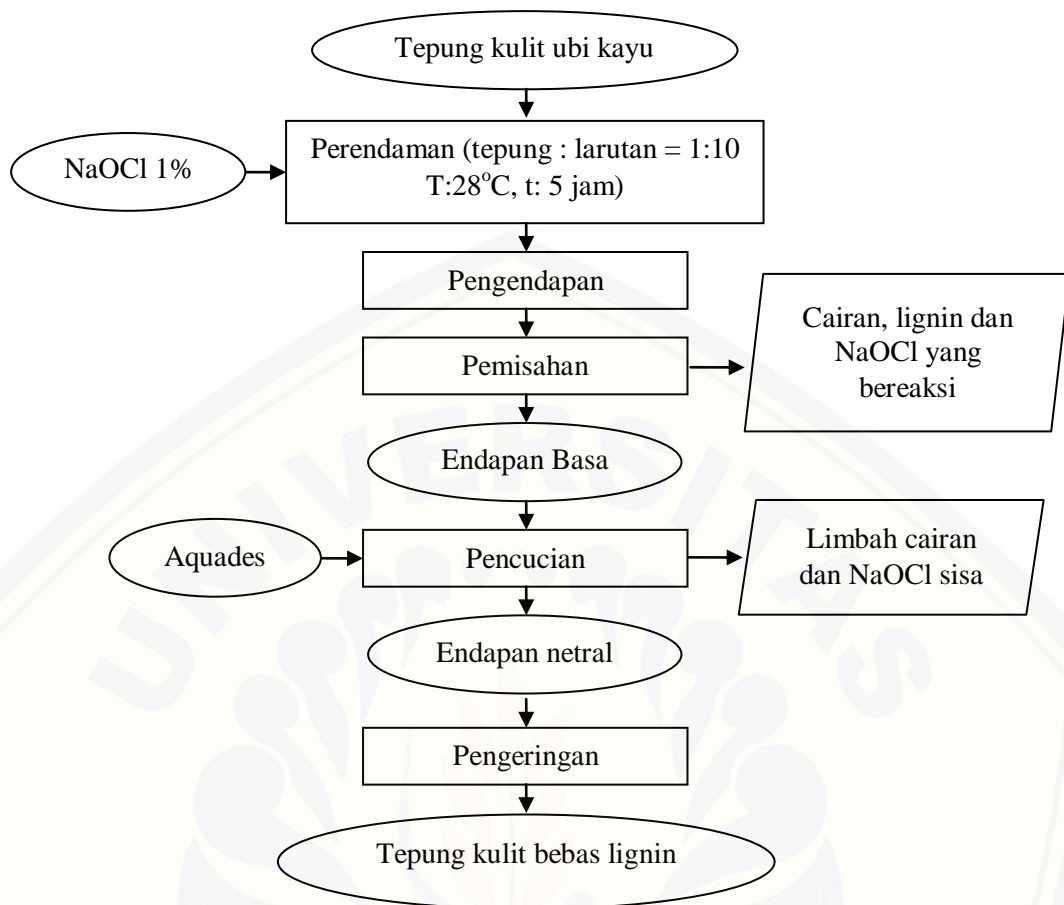
Kulit ubi kayu segar yang diperoleh dari Pabrik Pengolahan Tape Gebang-Jember dibersihkan kulit luarnya yang berwarna coklat dan dicuci bersih. Kulit yang telah bersih dilakukan pengeringan dan pengecilan ukuran. Pengeringan dilakukan menggunakan metode *sun drying* dan pengecilan ukuran menggunakan *hammer mill* hingga ukurannya menjadi 60 mesh (Olanbiwoninu, 2012). Diagram alir Pembuatan tepung kulit ubi kayu dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



Gambar 3.1 Diagram alir pembuatan tepung kulit ubi kayu

2) Delignifikasi tepung kulit ubi kayu

Delignifikasi dilakukan secara kimia dengan menggunakan larutan NaOCl berdasarkan metode Assadam (2014). Delignifikasi dilakukan dengan merendam 1000 g tepung kulit ubi kayu dalam 10 liter larutan NaOCl 1% selama 5 jam pada suhu 28 °C. Endapan yang terbentuk dipisahkan untuk diambil padatnya. Fraksi padatan (endapan) tersebut merupakan hemiselulosa dan selulosa, sedangkan fraksi cair adalah lignin. Endapan yang terbentuk dicuci menggunakan aquades sampai netral. Skema delignifikasi tersaji pada **Gambar 3.2** Setelah endapan bersifat netral, selanjutnya dikeringkan menggunakan metode *sun drying* selama 24 jam dan dilakukan karakteristik meliputi kadar air, kadar lignin, kadar selulosa, dan kadar hemiselulosa.

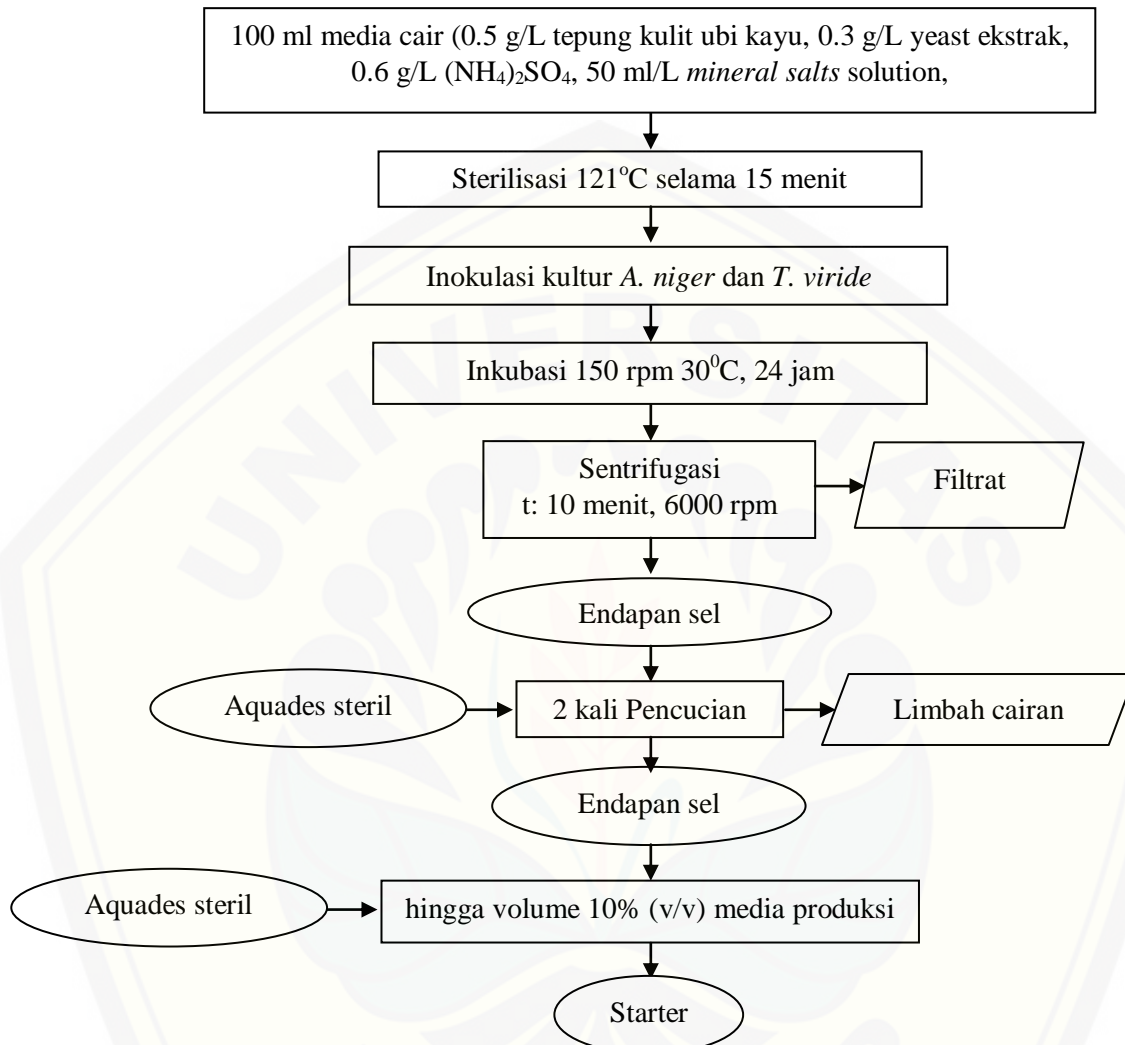


Gambar 3.2 Diagram alir delignifikasi tepung kulit ubi kayu

b. Persiapan starter

Starter dibuat dari kultur stok yang telah diremajakan pada media PDA agar miring. Tahapan pembuatan starter dapat dilihat pada **Gambar 3.3**. Mula-mula menyiapkan media inokulum yang berisi 0.5 g/L tepung kulit ubi kayu sebagai sumber karbon, 0.3 g/L yeast extract, 0.6 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 50 ml/L *mineral salts solution* (Pitt & Bull, 1982) dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Media inokulum disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dan dilakukan inokulasi kultur *A. niger* dan *T. viride*. Medium tersebut diinkubasi menggunakan orbital shaker inkubator pada suhu 30 °C 150 rpm selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pemisahan sel mikroba dengan medium pertumbuhan menggunakan sentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit dan dilakukan pencucian hingga dua kali. Endapan sel dipindah kedalam gelas ukur

dan ditambahkan aquades hingga volume 10% v/v media produksi. Starter ini siap digunakan untuk menghidrolisis tepung kulit ubi kayu.



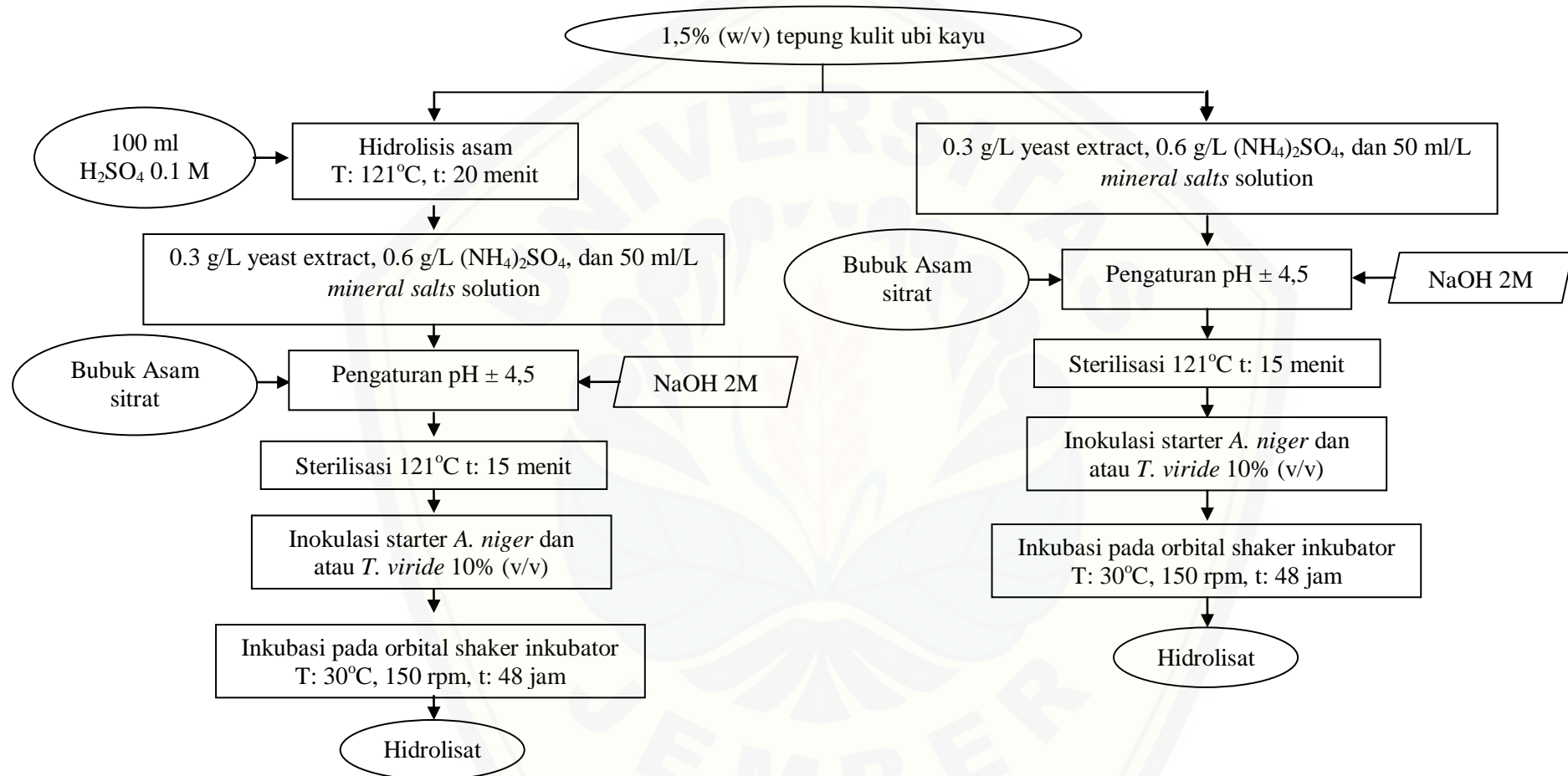
Gambar 3.3 Diagram alir penyiapan starter *A. niger* dan *T. viride*

c. Poduksi gula reduksi

Penelitian utama adalah produksi gula reduksi dengan metode hidrolisis secara mikrobiologis dengan dan tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 . Mikrobiologi yang digunakan yaitu kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran, sedangkan asam yang digunakan yaitu H_2SO_4 0.1 M. Metode hidrolisis yang digunakan menggunakan metode yang dikembangkan oleh (Olanbiwoninu dan Odunfa, 2012) dengan sedikit modifikasi. Pada metode hidrolisis dengan pretreatment hidrolisis asam mula-mula tepung kulit ubi kayu sebesar 1,5% (w/v)

yang telah dipreparasi, kemudian dilakukan hidrolisis awal menggunakan H_2SO_4 0.1 M pada suhu $121\text{ }^\circ\text{C}$ selama 20 menit. Selanjutnya hidrolisat di atur pH nya hingga mencapai $\pm 4,5$ dan di tambah nutrisi untuk mengkondisikan mikroorganisme tumbuh dan memproduksi enzim pendegradasi yang optimal yang berupa 0.3 g/L yeast ekstrak, 0.6 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan 50 ml/L *mineral salts solution* kemudian dilakukan sterilisasi pada $121\text{ }^\circ\text{C}$ selama 15 menit. Setelah disterilisasi larutan hidrolisat didinginkan dan dihidrolisis kembali menggunakan kapang dengan cara menginokulasikan starter *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran yang telah dipreparasi. Kemudian diinkubasi dalam orbital shaker inkubator pada suhu $30\text{ }^\circ\text{C}$, 150 rpm selama 48 jam dan dilakukan pengujian secara periodik setiap 12 jam sekali. Pengujian yang dilakukan meliputi populasi mikroba, kadar gula reduksi, kadar total gula terlarut, derajat polimerisasi, dan efisiensi hidrolisis. Adapun diagram alir proses hidrolisis dapat dilihat pada **Gambar 3.4**.

Metode hidrolisis yang kedua yaitu tanpa pretreatment hidrolisis asam yaitu mula-mula tepung kulit ubi kayu sebesar 1,5% (w/v) yang telah dipreparasi di tambah nutrisi untuk mengkondisikan mikroorganisme tumbuh optimal dan menghasilkan enzim pendegradasi yang optimal, nutrisi tersebut berupa 0.3 g/L yeast ekstrak, 0.6 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan 50 ml/L *mineral salts solution*, pengaturan pH hingga mencapai ± 4.5 , kemudian disterilisasi pada $121\text{ }^\circ\text{C}$ selama 15 menit. Setelah disterilisasi larutan didinginkan kemudian diinokulasikan dengan starter *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran yang telah dipreparasi. Kemudian diinkubasi dalam orbital shaker inkubator pada suhu $30\text{ }^\circ\text{C}$, 150 rpm selama 48 jam dan dilakukan pengujian secara periodik setiap 12 jam sekali. Pengujian yang dilakukan meliputi populasi mikroba, kadar gula reduksi, kadar total gula terlarut, derajat polimerisasi, dan efisiensi hidrolisis. Adapun diagram alir proses hidrolisis dapat dilihat pada **Gambar 3.4**.



Gambar 3.4 Diagram alir penelitian utama

3.4 Variabel Pengamatan

3.4.1 Pengamatan pada bahan baku meliputi:

- a. Kadar air (Metode Oven, Sudarmadji *et al.*, 1997)
- b. Kadar pati (Sudarmadji *et al.*, 1997)
- c. Kadar lignin, selulosa, dan hemiselulosa (Metode Chesson, 1981)

3.4.2 Pengamatan pada hidrolisat kulit ubi kayu meliputi:

- a. Perhitungan populasi mikroba (Metode lempeng agar, Ristiati, 2000)
- b. Analisa total gula terlarut (Dubois, 1956)
- c. Analisa gula reduksi (Metode DNS, Miller, 1959)
- d. Analisa derajat polimerisasi (Thalagala *et al.*, 2009)
- e. Perhitungan efisiensi hidrolisis (Thalagala *et al.*, 2009)

3.5 Prosedur Analisis

3.5.1 Penentuan Kadar Air

Pengukuran kadar air menggunakan metode oven yang dikembangkan oleh Sudarmadji (1997). Cawan kosong dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam eksikator kemudian ditimbang (a g). Sampel yang sudah dihaluskan ditimbang seberat 2 g dalam cawan kosong (b g). Cawan yang berisi sampel dimasukkan kedalam oven selama 4 – 6 jam dan dihindarkan kontak dengan dinding oven. Cawan dipindahkan kedalam eksikator dan setelah dingin (\pm 30 menit) ditimbang. Cawan kemudian dikeringkan kembali dalam oven selama 30 menit dan setelah didinginkan dalam eksikator ditimbang kembali dan pekerjaan ini dilakukan berulang kali hingga diperoleh berat konstan (c g). Kadar air ditentukan dengan rumus :

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

Keterangan:

- a : berat botol timbang (g)
- b : berat botol timbang dan sampel sebelum dioven (g)
- c : berat botol timbang dan sampel setelah dioven (g)

3.5.2 Penentuan Kadar Pati

Analisa kadar pati ditentukan menggunakan metode hidrolisi langsung oleh asam (*Direct Acid Hydrolysis*) yang dikembangkan oleh Sudarmadji (1997). Sebanyak 2 g sampel dimasukkan ke dalam *beaker glass* ditambahkan 50 ml aquades dan di stirer selama 1 jam. Suspensi disaring dengan kertas saring dan dicuci dengan aquades sampai volume filtrat 250 ml. Residu pada kertas saring dicuci 5 kali dengan 10 ml ether, biarkan ether menguap dari residu, kemudian dicuci lagi dengan 150 ml alkohol 10% untuk membebaskan lebih lanjut karbohidrat terlarut. Residu dipindahkan dari kertas saring kedalam erlenmeyer yang lain dengan pecucian 200 ml aquades dan ditambahkan 20 ml HCl 25%. Tutup dengan pendingin balik dan dipanaskan diatas penangas air mendidih selama 2,5 jam. Setelah dingin, larutan yang terbentuk dinetralkan dengan larutan NaOH 45% dan diencerkan sampai volume 500 ml. Penentuan glukosa dari filtrat yang diperoleh seperti pada penentuan gula reduksi.

$$\text{Kadar pati} = \frac{a \times \text{FP} \times 0,9}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

a : Jumlah glukosa anhidrat dari kurva standart (g)

b : Berat sampel (g)

FP : Faktor Pengenceran

3.5.3 Penentuan Kadar Lignoselulosa

Analisis lignoselulosa dilakukan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Chesson (1978). Adapun metodenya yaitu disiapkan satu gram sampel kering (a g) ditambahkan 150 ml H₂O. Direfluk pada suhu 100 °C selama 2 jam. Hasilnya disaring, residu dikeringkan dengan oven sampai konstan kemudian ditimbang (b g). Residu yang telah dikeringkan ditambah 150 ml H₂SO₄ 0,5 M dan direfluk pada suhu 100 °C selama 2 jam. Hasilnya disaring sampai netral dan dikeringkan kemudian di timbang (c g). Residu sampel yang telah dikeringkan ditambah 10 ml H₂SO₄ 72% (v/v) dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam. Kemudian diencerkan menjadi 0,5 M H₂SO₄, dan direfluk pada

suhu 100 °C selama 2 jam. Residu disaring dan dinetralkan, kemudian dikeringkan dan ditimbang (d g), selanjutnya residu yang telah kering diabukan dan ditimbang (e g).

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

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

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

Keterangan:

- a : berat awal sampel biomassa lignoselulosa (g)
b : residu sampel direfluk dengan air panas (g)
c : residu sampel setelah direfluk dengan 0,5 M H₂SO₄ (g)
d : residu sampel setelah direndam dengan 72% H₂SO₄ dan ketemuannya diencerkan menjadi 4% (g)
e : abu dari residu sampel (g)

3.5.4 Penentuan Jumlah Populasi Mikroba.

Penentuan populasi mikroba menggunakan metode lempeng agar dilakukan mengacu kepada metode yang dikembangkan oleh Ristiati (2000), adapun metodenya yaitu disiapkan beberapa tabung reaksi yang berisi larutan fisiologis steril sebanyak 9 ml. Masing-masing tabung kemudian ditambah 1 ml sampel yang akan diperiksa secara bertahap yaitu :

- 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung pertama, hingga konsentrasi larutan di dalam tabung pertama menjadi 10⁻¹.
- 1 ml di tabung pertama diambil dan dimasukkan ke tabung kedua, hingga konsentrasi di tabung kedua menjadi 10⁻², demikian seterusnya hingga didapat larutan dengan konsentrasi terendah yaitu 10⁻⁶.

Tiga tabung dengan konsentrasi terendah kemudian diambil 1 ml dan dipindah ke dalam cawan petri dan ditambahkan media padat PDA (Agar sebar). Pertumbuhan koloni yang kemudian timbul pada tiap-tiap cawan dihitung menggunakan alat penghitung koloni (*colony counter*).

3.5.5 Penentuan Kadar Gula Reduksi Menggunakan Metode DNS.

Penentuan kadar gula reduksi dilakukan mengacu kepada metode yang dikembangkan oleh Miller (1959), adapun metode yang dilakukan yaitu sebagai berikut.

a. Pembuatan reagen dinitrosalisilic acid (DNS)

Sebanyak 1,76 g NaOH (PA), 2 g DNS, dan 60 g K-Na Tartarat ditambahkan 100 ml akuades dan distirer hingga larut. Setelah itu larutan ditera hingga 200 ml dan disimpan dalam botol coklat.

b. Pembuatan kurva standar

Kurva standar diperoleh dengan cara membuat seri konsentrasi glukosa dari larutan glukosa standar 0.1%. Sebanyak 1 ml larutan glukosa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, di tambahkan 1 ml larutan DNS dan divortex. Setelah itu larutan dipanaskan pada suhu 100 °C selama 15 menit dan didinginkan sekitar 5 menit. Setelah dingin larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Kadar gula pereduksi diperoleh dari persamaan kurva standar dengan sumbu y sebagai nilai absorbansi dan sumbu x sebagai kadar gula pereduksi (mg/ml). Adapun pembuatan kurva standar diperoleh dari pengukuran absorbansi glukosa standar pada berbagai konsentrasi.

c. Penentuan kadar gula reduksi sampel

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di tambahkan 1 ml larutan DNS dan divortex. Setelah itu larutan dipanaskan pada suhu 100 °C selama 15 menit dan didinginkan sekitar 5 menit. Setelah dingin larutan ditambah 1 ml aquades dan divortex. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.

3.5.6 Penentuan Kadar Total Gula Terlarut

Penentuan kadar total gula terlarut mengacu pada metode yang dikembangkan oleh (Dubois, 1956), adapun penentuan kadar total gula terlarut diawali dengan pembuatan kurva standar total gula terlarut yang diperoleh dari pengukuran absorbansi glukosa standart pada berbagai konsentrasi. 1 ml larutan standar dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml larutan fenol 5%

dan divortex. Setelah itu ditambahkan secara cepat 2,5 ml H₂SO₄ pekat dengan cara menuangkan tegak lurus ke permukaan larutan. Biarkan 10 menit kemudian divortex dan didinginkan selama 20 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Penentuan total gula terlarut sampel sama dengan pembuatan kurva standar total gula terlarut, tetapi 1 ml larutan gula standar diganti dengan 1 ml sampel. Kadar total gula terlarut sampel diperoleh dari persamaan kurva standar dengan sumbu y sebagai absorbansi dan sumbu x sebagai total gula terlarut (mg/ml).

3.5.7 Penentuan Rerata Derajat Polimerisasi

Derajat polimerisasi (DP) adalah jumlah unit monomer pada makromolekul atau molekul oligomer dalam suatu blok atau rantai. Penentuan rerata DP menggunakan metode yang dikembangkan oleh Thalagala *et al.* (2009). Rerata DP dapat dihitung dari kadar total gula terlarut dibagi kadar gula pereduksi. Nilai rerata DP dipengaruhi oleh kadar total gula terlarut dan kadar gula pereduksi, dimana semakin besar kadar total gula terlarut dan semakin kecil kadar gula pereduksi yang didapat maka nilai rerata DP akan semakin besar. Semakin rendah nilai rerata DP, maka semakin pendek rantai penyusun gula, artinya telah terjadi pemutusan polimer berantai panjang menjadi polimer berantai pendek akibat proses hidrolisis.

$$\text{Nilai (DP)} = \frac{\text{Kadar Total Gula (g)}}{\text{Kadar Gula Pereduksi (g)}}$$

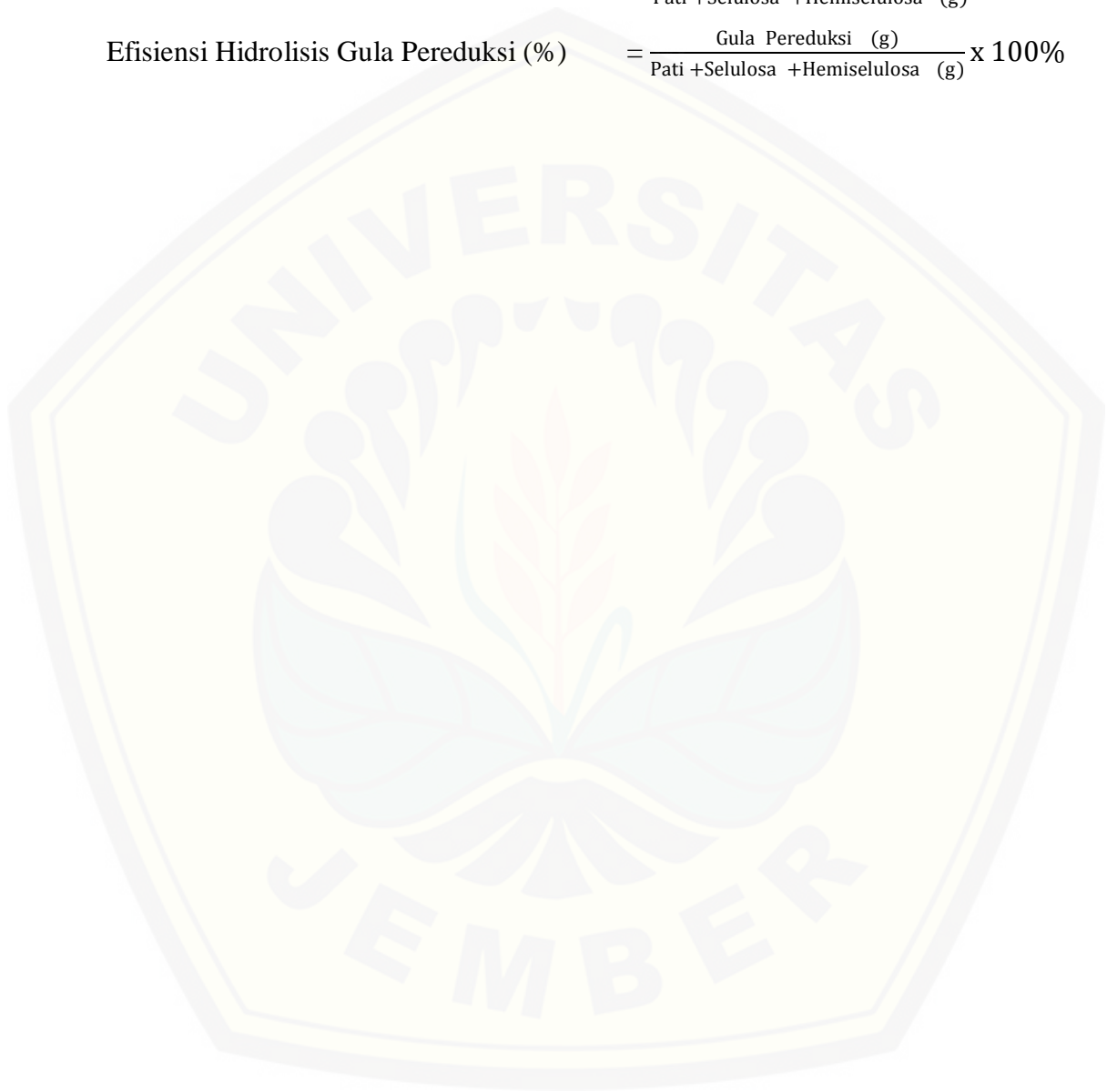
3.5.8 Efisiensi Hidrolisis

Efisiensi hidrolisis diperoleh dengan cara membagi nilai total gula terlarut /gula pereduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis dengan nilai polisakarida dari bahan baku kulit ubi kayu yang digunakan. Penentuan nilai efisiensi hidrolisis menggunakan metode yang dikembangkan oleh Thalagala *et al.*, (2009). Nilai efisiensi hidrolisis ini berguna untuk mengetahui berapa banyak gula terlarut dalam suatu hidrolisis. Apabila nilai efisiensi suatu produk semakin tinggi, maka

akan lebih banyak hidrolisat yang dihasilkan. Efisiensi hidrolisis dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Efisiensi Hidrolisis Total Gula terlarut (\%)} = \frac{\text{Total Gula (g)}}{\text{Pati +Selulosa +Hemiselulosa (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Efisiensi Hidrolisis Gula Pereduksi (\%)} = \frac{\text{Gula Pereduksi (g)}}{\text{Pati +Selulosa +Hemiselulosa (g)}} \times 100\%$$



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa;

- a. hasil hidrolisis tepung kulit ubi kayu menggunakan kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran keduanya dengan perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 tidak menghasilkan gula reduksi, sedangkan tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 jumlah gula reduksi yang dihasilkan berturut-turut sebesar 1,93 g/L; 2,01 g/L dan 3,08 g/L pada 24 jam hidrolisis, dan
- b. efisiensi hidrolisis tepung kulit ubi kayu menghasilkan total gula menggunakan *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran keduanya tanpa perlakuan awal hidrolisis H_2SO_4 berturut-turut sebesar 45,79% 48,40% dan 61,77%, sedangkan dalam menghasilkan gula reduksi berturut-turut sebesar 19,11%; 19,89% dan 30,46%

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai penggunaan tepung kulit ubi kayu dan penambahan kapang dengan berbagai konsentrasi sebagai upaya untuk meningkatkan produksi gula reduksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, P. B., D. K. Acharya, dan H. A. Modi. 2008. Optimization For Cellulase Production By *Aspergillus niger* Using Saw Dust As Substrate. *African Journal of Biotechnology*. 7 (22): 4147-4152.
- Ahamed, A. P, dan Vermette. 2008. Culture-based Strategies to Enhance Cellulase Enzyme Production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in Bioreactor Culture Conditions. *Biochemical Engineering Journal* 40: 399-407.
- Ambriyanto, K. S. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa dari Serasah Daun Rumpun Gajah (*Pennisetum purpureum schaum*). *Skripsi*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Assadam, A. 2014. Delignifikasi Secara Kimia Kulit Kopi Robusta Hasil Samping Pengolahan Kopi Metode Kering Sebagai Substrat Bioetanol. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Aziz A.A., M. Husin, dan A. Mokhtar. 2002. Preparation of cellulose from oil palm empty fruit bunches via ethanol digestion: effect of acid and alkali catalysts. *Journal of Oil alm Research*. 14 (1): 9-14.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan dan Diversifikasi Pangan*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.
- Badan Pusat Statistik. 2015. *Produksi Ubi Kayu Sektor Pertanian di Indonesia Tahun 2015*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Badger, P. C. 2002. Ethanol From Cellulose. A General Review. *J. Janick and A. Whipkey (eds.), Trends in new crops and new uses*. ASHS Press Alexandria, VA. 17-21.
- Beldman, G., M. F. S. V. Leeuwen., F. M. Rombouts, dan F. G. Voragen. 1985. The cellulase of *Trichoderma viride*. Purification, characterization and comparison of all detectable endoglucanases, exoglucanases and beta-glucosidases. *European Journal of Biochemistry*. 146: 301-308.
- Chesson, A. 1978. The Maceration of Linen Flax under Anaerobic Conditions. *Journal Of Applied Bacteriology*. 45: 219.
- Cheng, J. J., dan G. R. Timilsina. 2011. Status And Barriers Of Advanced Biofuel Technologies: A Review. *Renewable Energy*. 36: 3541-3549.

- Choi, C.H., dan A. P. Mathews. 1996. Two-step Acid Hydrolysis Process Kinetics in the Saccharification of Low-Grade Biomass: 1. Experimental Studies on the Formation and Degradation of Sugars. *Bioresource Technology*. 58: 101-106.
- Dubois, M., K. A. Gilles., J. K. Hamilton., P. A. Rebers, dan F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Journal Analytical Chemistry*. 28 (3): 350.
- Fowler, M. W. 1988. *Enzyme Technology in Biotechnology For Engineers, Biological System in Technological Processes*, Edited : Scragg, A. H., John Wiley & Sons, New York.
- Foyle, T., L. Jennings, dan P. Mulcahy. 2007. *C. Bioresour Technology*. 98: 3026-3036.
- Frazier, W. C., dan D. C. Westhoff. 1981. *Food Mycrobiology*. New York: McGraw-Hill.
- Gaman, P. M. dan K. B. Sherrington. 1995. *Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Press.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal., dan A. Oetari. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Goyal, M., K. L. Kalra., V. K Sareen., dan G. Soni. 2008. Xylanase Production with Xylan Rich Lignocellulosic Wastes by a Local Soil Isolate of *Trichoderma viride*. *Brazilian Journal Of Microbiology*. ISSN 1517-8382. 39: 535-541.
- Grace, M. R. 1977. *Cassava Processing: Food and Agriculture Organization*. Roma: Henniiee.
- Handayani, A. G., dan E. S. Pandebesie. 2014. Kombinasi Hidrolisis *Eichhornia crassipes* Menggunakan H₂SO₄ 0,25% dan *T. viride* pada Tahap Awal Pembuatan Bioetanol. *Prosiding Seminar Nasional Waste Management II ITS Surabaya*.
- Hamelinck, C. N., G. V. Hooijdonk., dan A. P. C. Faaij. 2005. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short, middle and long term. *Journal Biomass and Bioenergy*. 28: 384-410.
- Held, P. 2012. Enzymatic Digestion of Polysaccharides Part II: Optimization of Polymer Digestion and Glucose Production in Microplates. *Journal of Bio Tek*.

- Hofrichter, M. 2002. Review: Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme Microbiol Technology*. 30: 454-466.
- Holtzaple, M., M. Cognata., Y. Shu., dan C. Hendrickson. 1990. Inhibition of *Trichoderma reesei* Cellulase by Sugars and Solvents. *Biotechnology and Bioengineering*. 36: 275-287.
- Howard, R. L., E. J. Abotsi., V. E. L. Rensburg., dan S. Howard. 2003. Lignocellulose Biotechnology: Issues of Bioconversion an Enzyme Production. *African Journal Biotechnology* 2 (12): 602-619.
- Ibrahim, M., 1998. Clean Fractionation of Biomass - Steam Explosion and Extraction. Faculty of The Virginia Polytechnic Institute and State University
- Imam, A.N. 2006. Produksi Hidrolisis Pati dan Serat Pangan dari Singkong dengan Hidrolisis Asam Klorida. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Ingram, L.O., P. F. Gomez., X. Lai., M. Moniruzzaman., B. E. Wood., L. P. Yamano., dan S. W. York. 1999. Metabolic engineering of bacteria for ethanol production. *Journal of Biotechnol and Bioengenerly*. 58 (2): 204-214.
- Izzati N., R. Yusnidar., dan H.R. Amrullah. 2010. Optimasi Pembuatan Bioetanol dari Ubi Jalar Putih (*Ipomea batatas L.*) Sebagai Sumber Alternatif Bahan Bakar yang Terbarukan. *Skripsi*. Malang: Universitas Negeri Malang
- Judoamidjojo, R.M., E.G. Said, dan L. Hartanto. 1989. *Biokonversi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi-IPB. Bogor.
- Judoamidjojo, M. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Bogor: IPB-Press.
- Juhasz, T., K. Kozma., Z. Szengyel., dan K. Reczey. 2003. Production of β -Glucosidase in Mixed Culture of *Aspergillus niger* BKMF 1305 and *Trichoderma reesei* RUT C30. Food Technology. *Journal Biotechnolgy*. 41 (1): 49-53.
- Juwaied, A.A., A. A. H. Al-amier., Z. Abdumuniem., dan U. Anaam. 2011. Optimization of Cellulase Production by *Aspergillus niger* and *Tricoderma viride* Using Sugar Cane Waste. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 2 (2): 19-23.

- Kamara, D. S., Saadah, D. R., Shabarni, G. 2007. Degradasi Enzimatis Selulosa dari Batang Pohon Pisang untuk Produksi Glukosa dengan Bantuan Aktivitas Selulolitik *Trichoderma viride*. *Laporan Penelitian*. Universitas Padjajaran. FMIPA.
- Kongkiattikajorn, J. 2012. Ethanol Production from Dilute-Acid Pretreated Cassava Peel by Fed-Batch Simultaneous Saccharification and Fermentation. *International Journal of the Computer, the Internet and Management*. 20 (2): 22-27
- Lieckfeldt, E., G. J. Samuels., H. I. Nirenberg., dan O. Petrini. 1999. A Morphological and Molecular Perspective of *Trichoderma viride*. *Applied And Environmental Microbiology*, 65 (6): 2418–2428.
- Lin, Y., dan S. Tanaka. 2006. Ethanol Fermentation from Biomass Resources: Current State and Prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 69: 627-642.
- Loebis, E. H. 2008. Optimasi Proses Hidrolisis Kimiawi dan Enzimatis Tandan Kosong Kelapa sawit menjadi Glukosa untuk Produksi Etanol [*Tesis*]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Lynd, L.R., P.J. Weimer., W. H. Van Zyl., dan I. S. Pretorius. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 66 (3): 506-577.
- Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent For Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*. 31: 426-428.
- Mosier, N. 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 96: 673–686.
- Muhiddin, N. 2000. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Matematika dan Sains*. 6 (1): 1-12.
- Muthuvelayudham, R. dan Viruthagiri, T. 2007. Optimizat on and Modeling of Cellulase Protein from *Trichoderma reesei* Rut C30 Using Mixed Substrate. *African Journal of Biotechnology*. 6 (1): 41-46.
- Naufala, W.A. dan E. S. Pandebesie. 2015. Hidrolisis Eceng Gondok dan Sekam Padi untuk Menghasilkan Gula Reduksi sebagai Tahap Awal Produksi Bioetanol. *Jurnal Teknik ITS*. 4 (2): 2337-3539
- Narasimha, G., A. Sridevi., B. Viswanath., M. S. Chandra., dan B. R. Reddy. 2006. Nutrien Effects on Production of Cellulolytic Enzymes by *Aspergillus niger*. *African Journal of Biotechnology*. 5 (5): 472-476.

- Nzelibe, H. C., dan Okafoagu CU. 2007. Optimization of Ethanol Production from *Garcinia kola* (bitter kola) Pulp Agrowaste. *Full Length Research Paper*. 6 (17): 2033-2037.
- Obadina, A. O., O. B. Oyewole., L. O. Sanni., dan S. S. Abiola. 2006. Fungal Enrichment Of Cassava Peels Proteins. *African Journal Biotechnol.* 5 (3): 302-304.
- Olanbiwoninu, A.A., dan S. A. Odunfa. 2012. Enhancing the Production of Reducing Sugars from Cassava Peels by Pretreatment Methods. *International Journal of Science and Technology*. 2 (9): 650-657.
- Olofsson, K., M. Bertilsson., dan G. Lidén. 2008. Review: A short review on SSF-an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. *Biotechnology for Biofuels Journal*. 1 (7): 1-14.
- Orth A.B., D.J. Royse., dan M. Tien. 1993. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 59: 4017-4023.
- Patel, S.J., R. Onkarappa., dan K. S. Shobha. 2007. Study of ethanol production from fungal pretreated wheat and rice straw. *The Internet Journal of Microbiology*. 4 (1): 1-6.
- Peneliti Balai Besar Industri Agro. 2015. *Buku Profil Penelitian dan Pengembangan Komoditas Umbi-umbian*. Bogor: Balai Besar Industri Agro.
- Perez, J., D. J. Munoz., D. L. T. Rubia., dan J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview. *International Microbiology*. 5 (2): 53-63.
- Pitt, D. E. dan A. T. Bull. 1982. Influence of culture conditions on the physiology and composition of *Trichoderma aureoviride*. *Journal of General Microbiology*. 128: 1517-1527.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Pramanik, K. 2003. Parametric studies on batch alcohol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* yeast extracted from Toddy. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*. 34 (4): 487-492.
- Prasad, M.P. 2014. In-vitro Enzymatic activity in the production of Bioethanol using Agrowastes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3 (4): 745-749

- Putri, L. S. E., dan Fachruraji. 2011. Optimasi Produksi Bioetanol Dari Ubi Kayu (*Manihot utilissima* Pohl) menggunakan *Aspergillus niger* dan *Rhizopus oryzae*. *Berkala Penelitian*. 4: 87–90
- Ristiati, N. P. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional.
- Ruriani, E., A. Meryandini., dan T. C. Sunarti. 2012. Enzymatic hydrolysis of delignified corncob using combined enzyme. *International Journal of Food Nutrition and Public Health*. 5 (1,2,3): 107-127.
- Sanchez, O. J., dan C. A. Cardona. 2008. Review: Trends of Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstocks. *Bioresource Technology*. 99: 5270-5295
- Safaria, S., N. Idiawati., dan T. A. Zaharah. 2013. *Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari Aspergillus niger dan Trichoderma reesei dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa*. Program Studi Kimia. Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura.
- Selvakumar, P., L. Ashakumary., A. Helen., dan A. Pandey. 1996. Purification and Characterization of Glucoamylase Produced by *Aspergillus niger* in Solid State Fermentation. *Letters in Applied Microbiology*. 23: 403-406.
- Silveira, ST., M. S. Oliveira., J. A. Costa., dan S. J. Kalil. 2006. Optimization of glucoamylase production by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 128 (2): 131-40.
- Sjorbrg, G. 2003. Lignin Degradation Long-term effects of nitrogen addition on decomposition of forest soil organic matter. *Doctoral Thesis*. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences.
- Souza P.M, dan P. O. Magalhães. 2010. Application of microbial α -amylase in industry-A review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 10: 1590-1517.
- Susilawati, D.N., R. R. Saraswati., R. D. M. Simanungkalit., dan L. Gunarto. 2002. Koleksi, Karakterisasi, dan Preservasi Mikroba Penyubur Tanah dan Perombak Bahan Organik. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Sudarmadji, S., B. Haryono., dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sun, Y., dan J. Cheng. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: A review. *Journal Bioresource Technology*. 83:1-11.

- Syawala, D.S., T. Wardiyati., M. D. Maghfoer. 2013. Production Of Bioethanol From Corncob And Sugarcane Bagasse With Hydrolysis Process Using *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride*. *Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology*. 5 (4): 49-56.
- Taherzadeh, M. J., C. Niklasson., dan G. Liden. 1999. Conversion of dilute-acid hydrolyzates of spruce and birch to ethanol by fed-batch fermentation. *Journal of Bioresource Technology* 69: 59-66.
- Taherzadeh, M. J., dan K. Karimi. 2007. Enzyme Based Hydrolysis Process for Ethanol from Lignocellulosic Material. Review: *Journal BioResources*. 2 (4) : 707-738.
- Taherzadeh, M. J., dan K. Keikhosro. 2008. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 9: 1621-1651.
- Thalagala, T. A. T. P., S. Kodama., T. Mishima., N. Isono., A. Furujiyo., Y. Kawasaki., dan M. Hisamatsu. 2009. Study on a new preparation of D-glucose rich fractions from various lignocelluloses through a two-step extraction with sulphuric acid. *Journal of Applied Glycoscience* . 56:1-6.
- Tribak, M., M. J. A. Ocampo., dan I. G. Romera. 2002. Production of xyloglucanolytic enzymes by *Trichoderma viride*, *Paecilomyces farinosus*, *Wardomyces inflatus*, and *Pleurotus ostreatus*. *Mycologia*. 3: 404-410.
- Ul-Haq, I., M. M. Javed., T. S. Khan., dan Z. Siddiq. 2005. Cotton Saccharifying Activity of Cellulases Produced by Co-culture of *Aspergillus Niger* and *Trichoderma Viride*, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 1 (3): 241-245.
- Wang, M., Z. Li., X. Fang., L. Wang., dan Y. Qu. 2012. Cellulolytic enzyme production and enzymatic hydrolysis for second-generation bioethanol production. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. 128: 1-24.
- Widianti, L. 2010. Pengaruh Urea pada Biokonversi Xilosa menjadi Xilitol dari Hidrolisat Hemiselulosa Limbah Tanaman Jagung (*Zea mays*) oleh *Debaryomyces hansenii*. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Windari, H. A. S., Sutrisno., A. dan Roosdiana. 2014. Penentuan Waktu Fermentasi Optimum Produksi Xilanase dari *Trichoderma viride* Menggunakan Substrat Kulit Kedelai dan Kulit Kacang Hijau Melalui Fermentasi Semi Padat. *Kimia Student Journal*. 1 (1): 85-91.

- Wyman, C. E., S. R. Decker., M. E. Himmel., J. W. Brady., C. E. Skopec., dan L. Viikari. 2005. *Hydrolysis of Cellulose and Hemicellulose*. U.S.A: Macel Dekker.
- Xiang, Q., Y. Lee., dan R. Torget. 2003. Kinetics of glucose decomposition during dilute acid hydrolysis of lignocelluloic biomass. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 113: 1130-1133.
- Yasmeen, A., R. Shahid., F. Latif., dan M. I. Rajoka. 2002. Ethanol Production from Raw Corn Strach by Saccharification with Glucoamylase from *Aspergillus niger* Mutant M115 and Fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *Simposium*. Pakistan: National Institute for Biotechnology and genetic Engineering.
- Yoonan, K., dan J. Kongkiattikajorn. 2004. A Study of Optimal Conditions for Reducing Sugars Production from Cassava Peels by Diluted Acid and Enzymes. *Kasetsart Journal (Nat Sci)*. 38: 29-35.
- Yusak, Y. 2004. Pengaruh Suhu dan pH Bufer Asetat terhadap Hidrolisa CMC ioleh Enzim *Aspergillus niger* dalam Media Campuran Onggok dan Dedak. *Jurnal Sains Kimia*. 8. No 35-37.
- Zamora, A. 2005. *Carbohidrat-Chemical Structure*. <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates.html>. [21 Maret 2016].
- Zhang, Y. H. P., dan L. R. Lynd. 2004 Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulase systems. *Biotechnology and Bioengineering* . 88: 797–824.

LAMPIRAN

A. Karakteristik kulit ubikayu

Komponen	Ulangan			Rerata	STDEV
	1	2	3		
Kadar air	10.24	10.27	10.33	10,28	0.05
Kadar pati	20,11	19,64	20,10	19,95	0,26
Kadar lignin	3.19	3,28	3,18	3,21	0,05
Kadar selulosa	35.83	35.84	35.81	35,83	0,01
Kadar hemiselulosa	11.81	11.66	11.80	11,76	0.08

B. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran dengan perlakuan awal hidrolisis H₂SO₄

B.1 Data pengukuran populasi kapang

B.1.1 Populasi Kapang *T. viride*

Waktu (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Log cfu/ml			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	3	7	6	3x10 ⁴	7x10 ⁴	6x10 ⁴	4.48	4.81	4.74	4.68	0.18
12	13	16	11	1.3x10 ⁵	1.6x10 ⁵	1.1x10 ⁵	5.11	5.18	5.02	5.10	0.08
24	6	7	16	6x10 ⁵	7x10 ⁵	1.6x10 ⁶	5.77	5.81	5.16	5.58	0.36
36	6	8	4	6x10 ⁵	8x10 ⁵	4x10 ⁵	5.45	5.87	5.59	5.64	0,22
48	70	73	71	7x10 ⁵	7.3x10 ⁵	7.1x10 ⁵	5.83	5.86	5.85	5.85	0.01

B.1.2 Populasi Kapang *A. niger*

Waktu (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Log cfu/ml			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	2	6	7	2x10 ⁴	6x10 ⁴	7x10 ⁴	4.39	4.78	4.81	4.66	0.23
12	19	17	15	19 x10 ⁴	17 x10 ⁴	15 x10 ⁴	5.28	5.23	5.18	5.23	0.05
24	5	4	6	5 x10 ⁵	4 x10 ⁵	6 x10 ⁵	5.70	5.54	5.74	5.66	0.11
36	6	6	6	6 x10 ⁵	6 x10 ⁵	6 x10 ⁵	5.78	5.77	5.77	5.77	0.00
48	8	8	10	8 x10 ⁵	8 x10 ⁵	1 x10 ⁶	5.87	5.90	5.98	5.92	0.05

B.1.3 Populasi kombinasi *T. viride* + *A. niger*

Waktu (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Log cfu/ml			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	3	7	6	3x10 ⁴	7x10 ⁴	6x10 ⁴	4.48	4.74	4.81	4.67	0.18
12	13	19	20	1.3x10 ⁵	1.9x10 ⁵	2x10 ⁵	5.74	5.81	5.28	5.61	0.29
24	13	15	20	1.3x10 ⁶	1.5x10 ⁶	2x10 ⁶	6.10	6.15	6.28	6.18	0.10
36	22	19	17	2.2x10 ⁶	1.9x10 ⁶	1.7x10 ⁶	6.34	6.27	6.20	6.27	0.07
48	35	37	35	3.5x10 ⁶	3.7x10 ⁶	3.5x10 ⁶	6.54	6.56	6.54	6.55	0.02

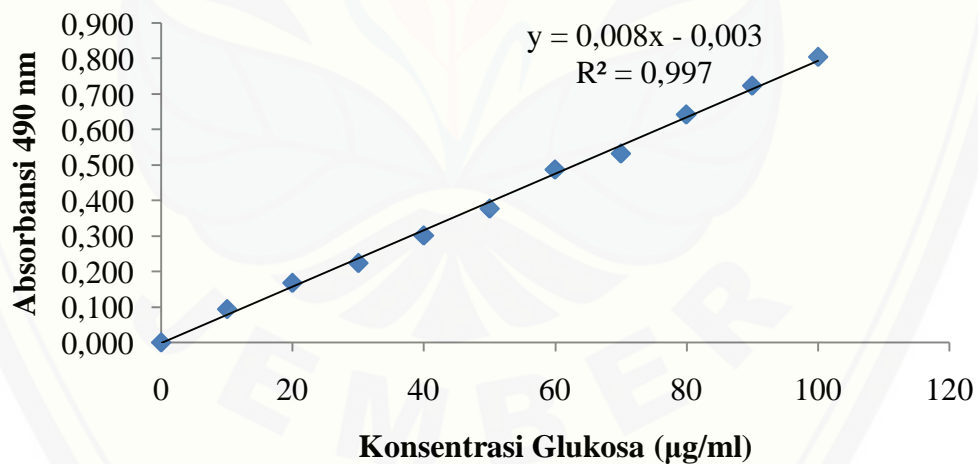
B.2 Data pengukuran kadar total gula terlarut

B.2.1. Nilai absorbansi glukosa dan kurva standar total gula terlarut

- Larutan glukosa standar = 0.01% = 0.01 g/100 ml = 10 mg/100 ml = 100 µg/ml

Volume pengambilan glukosa standar (ml)	H ₂ O (ml)	Konsentrasi glukosa (µg/ml)	Absorbansi
0	1	0	0.000
0.1	0.9	10	0.093
0.2	0.8	20	0.167
0.3	0.7	30	0.224
0.4	0.6	40	0.301
0.5	0.5	50	0.377
0.6	0.4	60	0.487
0.7	0.3	70	0.532
0.8	0.2	80	0.643
0.9	0.1	90	0.723
1	0	100	0.805

- Kurva standar total gula terlarut



B.2.2. Data kadar total gula terlarut

a. Total gula terlarut menggunakan H₂SO₄

Waktu (menit)	Absorbansi			Gula total (g/L)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
20	0,696	0,666	0,696	8,737	8,358	8,741	8,612	0,22

b. Total gula terlarut oleh kapang *T. viride*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula total (g/L)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0.794	0.800	0.797	9.963	10.038	10.004	10.001	0.04
12	0.704	0.705	0.700	8.846	8.858	8.796	8,833	0.03
24	0.538	0.536	0.539	6.767	6.742	6.783	6,764	0.02
36	0.305	0.303	0.310	3.858	3.833	3,913	3.868	0.04
48	0.259	0.232	0.245	3.283	2.937	3.108	3.110	0.17

c. Total gula terlarut oleh kapang *A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula total (g/L)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0.794	0.798	0.799	9.963	10.021	10.025	10.003	0.03
12	0.712	0.720	0.721	8.933	9.042	9.050	9.008	0.07
24	0.457	0.459	0.465	5.750	5.771	5.850	5.790	0,05
36	0.269	0.259	0.273	3.404	3.271	3.450	3.375	0.09
48	0.203	0.206	0.218	2.575	2.613	2.758	2.649	0.10

d. Total gula terlarut oleh kapang *T. viride* + *A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula total (g/L)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0.798	0.797	0.797	10.008	9.995	10.000	10.001	0.01
12	0.663	0.641	0.655	8.329	8.045	8.220	8.198	0.14
24	0.291	0.278	0.295	3.675	3.512	3.720	3.636	0.11
36	0.198	0.194	0.199	2.508	2.462	2.520	2.497	0.03
48	0.101	0.102	0.102	1.304	1.308	1.308	1.306	0.00

Contoh perhitungan total gula terlarut:

1 ml sampel diencerkan dengan aquades dan ditera 2 kali menggunakan 10 ml. Sehingga faktor pengenceran yang digunakan dalam analisa total gula terlarut adalah 100.

- Nilai absorbansi total gula terlarut pada 24 jam fermentasi ulangan 1 = 0.291

$$\text{Kadar total gula terlarut} = x; \text{ dimana } x = \frac{y+0.003}{0.008}$$

$$\text{Absorbansi} = y$$

$$x = \frac{0.291+0.003}{0.008}$$

$$= 36,750 \mu\text{g/ml}$$

Faktor pengenceran (FP) = 10^2

$$\begin{aligned} \text{Sehingga kadar total gula terlarut (g/L supernatan)} &= 36,750 \mu\text{g/ml} \times \text{FP} \\ &= 36,750 \mu\text{g/ml} \times 10^2 \\ &= 3.675 \mu\text{g/ml} \\ &= 3,675 \text{ g/L} \end{aligned}$$

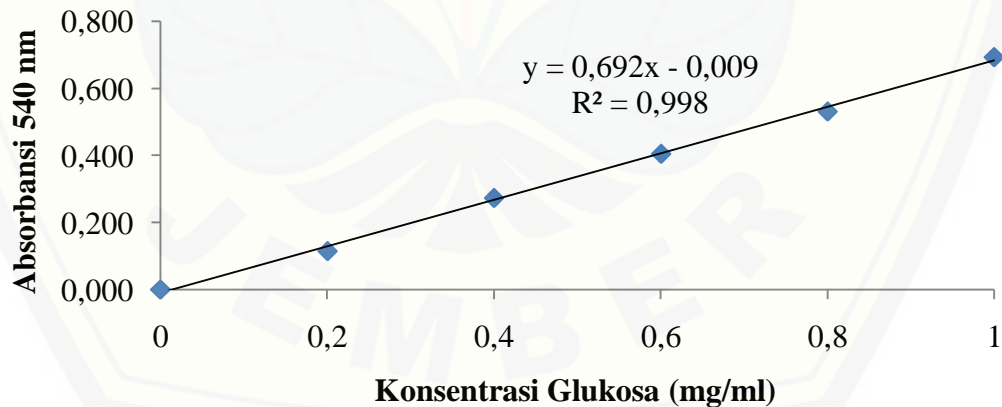
B.3 Data pengukuran kadar gula reduksi

B.3.1 Nilai absorbansi glukosa dan kurva standar gula pereduksi

- Larutan glukosa standar = 0.1% = 0.1 g/100 ml = 1 mg/ml

Volume pengambilan glukosa standar (ml)	H ₂ O (ml)	Konsentrasi glukosa (mg/ml)	Absorbansi
0.0	1.0	0.0	0.000
0.2	0.8	0.2	0.115
0.4	0.6	0.4	0.273
0.6	0.4	0.6	0.406
0.8	0.2	0.8	0.532
1.0	0.0	1.0	0.693

- Kurva standar gula pereduksi



B.3.2 Data kadar gula pereduksi

a. Gula reduksi menggunakan H₂SO₄

Waktu (menit)	Absorbansi			Gula Reduksi (mg/ml)			Rerata	STDEV
	1	2	3	1	2	3		
20	0,557	0,559	0,558	8,174	8,208	8,198	8,193	0,01

b. Gula reduksi oleh kapang *T. viride*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula Reduksi (mg/ml)			Rerata	STDEV
	1	2	3	1	2	3		
0	0.581	0.584	0.576	8.555	8.591	8.432	8.526	0.08
12	0.516	0.506	0.478	7.591	7.451	7.047	7.363	0.28
24	0.371	0.348	0.352	5.496	5.168	5.216	5.293	0.18
36	0.165	0.160	0.144	2.519	2.442	2.220	2.394	0.16
48	0.771	0.767	0.721	1.127	1.121	1.055	1.101	0.04

c. Gula reduksi oleh kapang *A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula Reduksi (mg/ml)			Rerata	STDEV
	1	2	3	1	2	3		
0	0.582	0.581	0.578	8.545	8.535	8.487	8.522	0.03
12	0.528	0.497	0.516	7.760	7.220	7.586	7.522	0.28
24	0.290	0.311	0.266	4.330	4.629	3.983	4.314	0.32
36	0.867	0.934	0.945	1.266	1.363	1.379	1.336	0.16
48	0.608	0.580	0.549	0.891	0.851	0.807	0.850	0.04

d. Gula reduksi oleh kapang *T. viride + A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula Reduksi (mg/ml)			Rerata	STDEV
	1	2	3	1	2	3		
0	0.583	0.584	0.575	8.559	8.565	8.444	8.524	0.07
12	0.454	0.431	0.470	6.690	6.363	6.922	6.658	0.28
24	0.124	0.125	0.121	1.922	1.936	1.878	1.912	0.03
36	0.521	0.514	0.539	0.766	0.756	0.792	0.772	0.02
48	0.233	0.287	0.288	0.349	0.429	0.428	0.402	0.05

Contoh perhitungan gula reduksi:

1 ml sampel diencerkan dengan aquades dan ditera hingga 10 ml.

Sehingga faktor pengenceran yang digunakan dalam analisa gula pereduksi adalah 10.

- Nilai absorbansi gula reduksi pada 24 jam fermentasi ulangan 1 = 0.5833

$$\text{Kadar total gula terlarut} = x; \text{ dimana } x = \frac{y+0.009}{0.692}$$

$$\text{Absorbansi} = y$$

$$x = \frac{0.5833+0.009}{0.692}$$

$$= 0.1922 \text{ mg/ml}$$

$$= 0.1922 \text{ g/L}$$

Faktor pengenceran (FP) = 10

$$\begin{aligned} \text{Sehingga kadar gula reduksi (g/L supernatan)} &= 0.8559 \text{ g/L} \times \text{FP} \\ &= 0.1922 \text{ g/L} \times 10 \\ &= 1.922 \text{ g/L} \end{aligned}$$

C. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran tanpa Perlakuan awal Hidrolisis H₂SO₄

C.1 Data pengukuran populasi kapang

C.1.1 Populasi Kapang *T. viride*

Waktu (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Log cfu/ml			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	6	3	6	6x10 ⁴	3x10 ⁴	6x10 ⁴	4,772	4,477	4,778	4,676	0,17
12	8	8	7	8x10 ⁴	8x10 ⁴	7x10 ⁴	4,874	4,900	4,812	4,862	0,05
24	27	31	21	2.7x10 ⁵	3.1x10 ⁵	2.1x10 ⁵	5,414	5,433	5,318	5,388	0,06
36	11	18	47	1.1x10 ⁵	1.8x10 ⁵	4.7x10 ⁵	5,040	5,255	5,672	5,322	0,32
48	21	23	14	2.1x10 ⁵	2.3x10 ⁵	1.4x10 ⁵	5,305	4,860	5,145	5,103	0,23

C.1.2 Populasi Kapang *A. niger*

Waktu (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Log cfu/ml			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	5	4	6	5x10 ⁴	4x10 ⁴	6x10 ⁴	4,699	4,540	4,739	4,659	0,11
12	9	9	9	9x10 ⁴	9x10 ⁴	9x10 ⁴	4,929	4,923	4,929	4,927	0,00
24	25	35	20	2,4x10 ⁵	3,5x10 ⁵	2x10 ⁵	5,389	5,540	5,301	5,410	0,12
36	35	15	20	3,5x10 ⁵	1,5x10 ⁵	2x10 ⁵	5,602	5,151	5,301	5,330	0,20
48	6	8	6	6x10 ⁵	8x10 ⁵	6x10 ⁵	4,739	4,900	4,739	4,792	0,09

C.1.3 Populasi kombinasi *T. viride* + *A. niger*

Waktu (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Log cfu/ml			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	6	4	6	6x10 ⁴	4x10 ⁴	6x10 ⁴	4,724	4,540	4,778	4,680	0,12
12	13	15	20	1,3x10 ⁵	1,5x10 ⁵	2x10 ⁵	5,097	5,148	5,283	5,176	0,10
24	8	9	13	8x10 ⁵	9x10 ⁵	1,3x10 ⁵	5,889	5,923	6,102	5,971	0,11
36	8	4	10	8x10 ⁵	4x10 ⁵	1x10 ⁵	5,903	5,540	6,000	5,814	0,24
48	3	2	4	3x10 ⁵	2x10 ⁵	4x10 ⁵	5,452	5,301	5,540	5,431	0,12

C.2. Data pengukuran kadar gula total

C.2.1 Total gula terlarut oleh kapang *T. viride*

Waktu (jam)	Absorbansi			Total Gula (mg/ml)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0,158	0,158	0,159	2,013	2,008	2,025	2,015	0,01
12	0,226	0,212	0,226	2,867	2,692	2,858	2,806	0,10
24	0,379	0,362	0,364	4,771	4,567	4,583	4,640	0,11
36	0,203	0,206	0,218	2,575	2,613	2,758	2,649	0,10
48	0,143	0,140	0,136	1,825	1,783	1,733	1,780	0,05

C.2.2 Total gula terlarut oleh kapang *A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Total Gula (mg/ml)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0,158	0,155	0,161	2,008	1,975	2,054	2,012	0,04
12	0,238	0,261	0,219	3,017	3,296	2,775	3,029	0,26
24	0,432	0,398	0,379	4,933	4,929	4,850	4,904	0,05
36	0,185	0,197	0,182	2,350	2,500	2,317	2,388	0,10
48	0,110	0,112	0,116	1,413	1,433	1,492	1,445	0,04

C.2.3 Total gula terlarut oleh kapang *T. viride* + *A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Total Gula (mg/ml)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0,159	0,159	0,158	2,025	2,021	2,017	2,0208	0,00
12	0,387	0,407	0,360	4,879	5,125	4,538	4,8472	0,30
24	0,497	0,514	0,481	6,254	6,470	6,54	6,259	0,21
36	0,291	0,278	0,295	3,675	3,513	3,721	3,6361	0,11
48	0,108	0,113	0,112	1,392	1,450	1,433	1,4250	0,03

C.3 Data pengukuran kadar gula pereduksi

C.3.1 Gula reduksi oleh kapang *T. viride*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula Reduksi (mg/ml)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0,207	0,220	0,216	0,312	0,330	0,326	0,3226	0,01
12	0,422	0,433	0,430	0,623	0,638	0,634	0,6318	0,01
24	0,127	0,125	0,123	1,970	1,936	1,903	1,9364	0,03
36	0,102	0,102	0,098	1,604	1,599	1,541	1,5816	0,03
48	0,341	0,386	0,363	0,506	0,570	0,538	0,5381	0,03

C.3.2 Gula reduksi oleh kapang *A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula Reduksi (mg/ml)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0,206	0,221	0,215	0,311	0,332	0,324	0,3224	0,01
12	0,464	0,830	0,669	0,684	1,213	0,980	0,9589	0,27
24	0,131	0,131	0,129	2,028	2,023	1,994	2,0151	0,02
36	0,831	0,830	0,669	1,214	1,213	0,980	1,1355	0,13
48	0,234	0,314	0,325	0,351	0,466	0,483	0,4333	0,07

C.3.3. Gula reduksi oleh kapang *T. viride* + *A. niger*

Waktu (jam)	Absorbansi			Gula Reduksi (mg/ml)			Rerata	Stdev
	1	2	3	1	2	3		
0	0,212	0,212	0,217	0,319	0,319	0,327	0,3218	0,00
12	0,102	0,102	0,101	1,604	1,599	1,590	1,5976	0,01
24	0,203	0,205	0,206	3,059	3,099	3,102	3,0867	0,02
36	0,132	0,132	0,125	2,033	2,042	1,936	2,0039	0,06
48	0,224	0,231	0,182	0,336	0,347	0,276	0,3198	0,04

D. Data Pengukuran Rerata Derajat PolimerisasiD.1. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran dengan perlakuan awal hidrolisis H₂SO₄

Perlakuan	Kadar (mg/ml)										Derajat polimerisasi				
	Total gula jam ke					Gula pereduksi jam ke									
	0	12	24	36	48	0	12	24	36	48	0	12	24	36	48
<i>T. viride</i>	10,00	8,83	6,76	3,87	3,11	8,53	7,36	5,29	2,39	1,10	1,17	1,20	1,28	1,62	2,82
<i>A. niger</i>	10,00	9,01	5,79	3,38	2,65	8,52	7,52	4,31	1,34	0,85	1,17	1,20	1,34	2,53	3,12
<i>T. viride</i> + <i>A. niger</i>	10,00	8,20	3,64	2,50	1,31	8,52	6,66	1,91	0,77	0,40	1,17	1,23	1,90	3,23	3,25

D.2. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran tanpa perlakuan awal hidrolisis H₂SO₄

Perlakuan	Kadar (mg/ml)										Derajat polimerisasi				
	Total gula jam ke					Gula pereduksi jam ke									
	0	12	24	36	48	0	12	24	36	48	0	12	24	36	48
<i>T. viride</i>	2,02	2,81	4,64	2,65	1,78	0,32	0,63	1,94	1,58	0,54	6,25	4,44	2,40	1,67	3,31
<i>A. niger</i>	2,01	3,03	4,90	2,39	1,45	0,32	0,96	2,02	1,14	0,43	6,24	3,16	2,43	2,10	3,34
<i>T. viride</i> + <i>A. niger</i>	2,02	4,85	6,26	3,64	1,43	0,32	1,60	3,09	2,00	0,32	6,28	3,03	2,03	1,81	4,46

$$\text{Nilai (DP)} = \frac{\text{Kadar Total Gula (mg)}}{\text{Kadar Gula Pereduksi (mg)}}$$

E. Data Pengukuran Efisiensi Hidrolisis

E.1. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran dengan perlakuan awal hidrolisis H₂SO₄

Perlakuan	Kadar (mg/ml)										Pati + Selulosa + Hemiselulosa	Efisiensi hidrolisis									
	Total gula jam ke					Gula pereduksi jam ke						Total gula					Gula Reduksi				
	0	12	24	36	48	0	12	24	36	48		0	12	24	36	48	0	12	24	36	48
<i>T. viride</i>	10	8,83	6,76	3,87	3,11	8,53	7,36	5,29	2,39	1,10	10,13	98,70	87,17	66,75	38,17	30,69	84,14	72,67	52,24	23,63	10,87
<i>A. niger</i>	10	9,01	5,79	3,38	2,65	8,52	7,52	4,31	1,34	0,85	10,13	98,71	88,90	57,14	33,31	26,14	84,11	74,24	42,58	13,19	8,39
<i>T. viride</i> + <i>A. niger</i>	10	8,20	3,64	2,50	1,31	8,52	6,66	1,91	0,77	0,40	10,13	98,70	80,91	35,88	24,64	12,90	84,12	65,71	18,87	7,62	3,97

E.2. Hidrolisis kulit ubi kayu oleh kapang *T. viride*, *A. niger* dan kultur campuran tanpa perlakuan awal hidrolisis H₂SO₄

Perlakuan	Kadar (mg/ml)										Pati + Selulosa + Hemiselulosa	Efisiensi hidrolisis									
	Total gula jam ke					Gula pereduksi jam ke						Total gula					Gula Reduksi				
	0	12	24	36	48	0	12	24	36	48		0	12	24	36	48	0	12	24	36	48
<i>T. viride</i>	2,02	2,81	4,64	2,65	1,78	0,32	0,63	1,94	1,58	0,54	10,13	19,89	27,69	45,79	26,14	17,57	3,18	6,24	19,11	15,61	5,31
<i>A. niger</i>	2,01	3,03	4,90	2,39	1,45	0,32	0,96	2,02	1,14	0,43	10,13	19,86	29,89	48,40	23,57	14,27	3,18	9,46	19,89	11,21	4,28
<i>T. viride</i> + <i>A. niger</i>	2,02	4,85	6,26	3,64	1,43	0,32	1,60	3,09	2,00	0,32	10,13	19,94	47,83	61,77	35,88	14,06	3,18	15,77	30,46	19,77	3,16

$$\text{Efisiensi Hidrolisis Total Gula terlarut (\%)} = \frac{\text{Total Gula (mg)}}{\text{Pati +Selulosa +Hemiselulosa (mg)}} \times 100\%$$

$$\text{Efisiensi Hidrolisis Gula Pereduksi (\%)} = \frac{\text{Gula Pereduksi (mg)}}{\text{Pati +Selulosa +Hemiselulosa (mg)}} \times 100\%$$