



**DEGRADASI KOMPONEN SELULOSA, HEMISELULOSA, DAN PATI
TEPUNG KULIT UBI KAYU MENJADI GULA PEREDUKSI OLEH
Aspergillus niger, *Trichoderma viride*, DAN
Acremonium sp. IMI 383068**

SKRIPSI

Oleh

**Anis Shabrina Hanifa
NIM 131710101056**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**DEGRADASI KOMPONEN SELULOSA, HEMISELULOSA, DAN PATI
TEPUNG KULIT UBI KAYU MENJADI GULA PEREDUKSI OLEH
Aspergillus niger, *Trichoderma viride*, DAN
Acremonium sp. IMI 383068**

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

**Anis Shabrina Hanifa
NIM 131710101056**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Yang Utama Dari Segalanya..

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT. Taburan cinta dan kasih sayang-Nya telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta. Atas karunia serta kemudahan yang diberikan-Nya skripsi ini dapat terselesaikan.

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibu dan Ayah sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga. Mbak Fifi, Tata, dan Kiki atas kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga.
2. Pembimbing dan penyalur ilmuku, guru-guruku tercinta sejak TK hingga perguruan tinggi.
3. Almamater kebanggaanku Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
4. PT. Indofood Sukses Makmur Tbk. yang telah memberikan dukungan dan bimbingannya melalui program Indofood Riset Nugraha.

MOTTO

Man Jadda Wajada

Man Shabara Zhafira

Man Sara Ala Darbi Washala

Kesuksesan hanya dapat diraih dengan segala upaya dan usaha yang disertai dengan doa, karena sesungguhnya nasib seorang manusia tidak akan berubah dengan sendirinya tanpa berusaha.

Lakukan yang terbaik sehingga aku tak akan menyalahkan diriku sendiri atas segalanya.

(Magdalena Neuner)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Anis Shabrina Hanifa

NIM : 131710101056

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Degradasi Komponen Selulosa, Hemiselulosa, dan Pati Tepung Kulit Ubi Kayu Menjadi Gula Pereduksi oleh *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp. IMI 383068*”** 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 saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 April 2018
Yang menyatakan,



Anis Shabrina Hanifa
NIM. 131710101056

SKRIPSI

**DEGRADASI KOMPONEN SELULOSA, HEMISELULOSA, DAN PATI
TEPUNG KULIT UBI KAYU MENJADI GULA PEREDUKSI OLEH
Aspergillus niger, *Trichoderma viride*, DAN
Acremonium sp. IMI 383068**

Oleh

Anis Shabrina Hanifa
NIM. 131710101056

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus

Dosen Pembimbing Aggota : Ahmad Nafi' S.TP., M.P.

PENGESAHAN


Skripsi berjudul “Degradasi Komponen Selulosa, Hemiselulosa, dan Pati Tepung Kulit Ubi Kayu Menjadi Gula Pereduksi oleh *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068” karya Anis Shabrina Hanifa telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Kamis, 19 April 2018

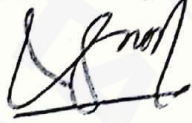
tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



Dr. Ir. Jayus
NIP. 1968051619920031004

Dosen Pembimbing Anggota,



Ahmad Nafi' S.TP., M.P.
NIP. 1968051619920031004

Tim Penguji:

Dosen Penguji Utama,


Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.
NIP. 196411091989021002

Dosen Penguji Anggota,


Dr. Maria Belgis, S.TP., M.P.
NIP. 760016850

Mengesahkan
Dekan,

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

RINGKASAN

Degradasi Komponen Selulosa, Hemiselulosa, dan Pati Tepung Kulit Ubi Kayu Menjadi Gula Pereduksi oleh *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp.* IMI 383068; Anis Shabrina Hanifa, 131710101056: 2018: 74 Halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Kulit ubi kayu merupakan limbah padat yang dihasilkan oleh agroindustri pengolahan ubi kayu seperti pada industri tapioka ataupun turunannya. Keberadaannya cukup melimpah dan belum dimanfaatkan secara optimal. Kulit ubi kayu mengandung komponen lignoselulosa dan juga pati yang cukup tinggi sehingga berpotensi untuk dijadikan sebagai sumber gula pereduksi melalui proses hidrolisis. Hidrolisis enzimatis dengan bantuan mikroorganisme dipilih karena jauh lebih ramah lingkungan sebab tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses yang lebih lunak (suhu rendah, pH netral), berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan yang relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif. Kendala yang dihadapi dalam proses hidrolisis enzimatis menggunakan bantuan mikroorganisme adalah kemampuan mikroorganisme yang masih rendah dalam mendegradasi komponen selulosa, hemiselulosa, dan pati sehingga proses hidrolisisnya tidak efisien. Oleh karena itu perlu adanya optimalisasi pada proses hidrolisis untuk menghasilkan gula reduksi yang maksimal. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kombinasi perlakuan konsentrasi substrat dan tingkat kecepatan aerasi yang efisien dalam menghasilkan gula reduksi.

Optimasi terhadap proses hidrolisis dilakukan dengan mengkombinasikan perlakuan konsentrasi substrat tepung kulit ubi kayu (2% dan 3%) dengan tingkat kecepatan aerasi (0 L/min; 0,3 L/min; 0,6 L/min). Substrat yang telah dipreparasi selanjutnya diinokulasikan dengan kultur campuran kapang *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp.* IMI 383068, diinkubasi pada suhu 30°C selama 60 jam dan dilakukan pengamatan populasi mikroba, gula reduksi, dan total gula terlarut secara periodik setiap 12 jam. Pengamatan juga dilakukan pada bahan baku tepung kulit ubi kayu yang meliputi kadar air, kadar lignoselulosa, dan kadar pati untuk keperluan perhitungan nilai rerata derajat polimerisasi dan efisiensi hidrolisis.

Hasil penelitian menunjukkan tepung kulit ubi kayu yang digunakan sebagai substrat hidrolisis mengandung komponen selulosa sebesar 51,19%, hemiselulosa sebesar 16,93%, dan pati 11,55%. Variasi perlakuan konsentrasi substrat dan tingkat kecepatan aerasi yang digunakan dapat mempengaruhi peningkatan kadar gula reduksi yang dihasilkan. Kombinasi perlakuan yang memiliki efisiensi hidrolisis tertinggi yaitu hidrolisis dengan penggunaan konsentrasi substrat 2% pada kecepatan aerasi 0,6 L/min menghasilkan gula reduksi sebesar 8,33 g/L dan efisiensi hidrolisis sebesar 52,29%.

SUMMARY

Degradation of cellulose, hemicellulose, and starch component in cassava peels flour into reducing sugar by *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, and *Acremonium sp.* IMI 383068; Anis Shabrina Hanifa; 131710101056; 2018; 74 pages; Department of Agricultural Products Technology Faculty of Agricultural Technology, Jember University.

Cassava peels are solid waste produced by cassava processing industry such as tapioca industry or its derivatives. Its amount is quite abundant and has not been utilized optimally. Cassava peels contains starch and lignocellulose components that has the potential to be used as a source of reducing sugar through hydrolysis process. Enzymatic hydrolysis was chosen because it is much more environmentally friendly, no degradation of hydrolyzed sugar, softer condition process (low temperature, neutral pH), high yield potential, and low maintenance cost. The constraints in the enzymatic hydrolysis process using microorganisms is the ability of microorganisms in degrading the components of cellulose, hemicellulose, and starch are low. It was cause the hydrolysis of component cellulose process is not efficient. Therefore, it is necessary to optimize the hydrolysis process to produce reducing sugar efficiently. The purpose of this research is to know the most efficient combination of treatment of substrate concentration and the level of aeration in producing reducing sugar

Optimization of hydrolysis process was done by combining the treatment of 2 and 3% cassava peel flour substrate concentration with aeration level of 0 L/min; 0.3 L/min; 0.6 L/min. The prepared substrate was added to mixed cultures of *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, and *Acremonium sp.* IMI 383068, incubated at 30°C for 60 hours and observed periodically every 12 hours. The observation variable was divided into two categories: observation on raw materials including moisture content, starch content, lignocellulosic content and observations on hydrolyzate including microbial population, reducing sugar content, and total dissolved sugar content. The result then was calculated for the average value of degree of polymerization and hydrolysis efficiency.

The result showed that cassava peel flour used as a hydrolysis substrate containing 51.19% of cellulose component, 16.93% of hemicellulose, and 11.55% of starch. The variation of substrate concentration treatment and the level of aeration used could influence the increase of the reduction sugar content generated. The combination of treatment which has the highest hydrolysis efficiency is hydrolysis with the use of 2% substrate concentration at aeration level 0,6 L/min which generated 8,33 g/L reduction sugar and hydrolysis efficiency is 52,29%.

PRAKATA

Puji syukur atas kehadiat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Degradasi Komponen Selulosa, Hemiselulosa, dan Pati Tepung Kulit Ubi Kayu Menjadi Gula Pereduksi oleh *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium* sp. IMI 383068”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

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

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP, M.Eng selaku Dekan Fakultas teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Nurud Diniyah S.TP., M.P dan Dr. Yuli Witono S.TP., M.P selaku Dosen Pembimbing Akademik;
4. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan serta arahan selama penulisan skripsi;
5. Ahmad Nafi' S.TP., M.P selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi kemajuan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi;
6. Dr. Sony Suwasono, M.Appk. Sc. dan Dr. Maria Belgis S.TP., M.P. selaku tim penguji, atas saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;
7. Ibu, Ayah, Mbak Fifi, Tata, dan Kiki serta seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa dan dorongan demi terselesaikannya skripsi ini;
8. PT. Indofood Sukses Makmur Tbk yang telah memberikan dukungan dan bimbingannya melalui Program Indofood riset Nugraha;
9. Teman-teman LDR Dundun, Itok, Rizal, Ridok, dan Fadil. Teman-teman BGG Intun, Leli, Onik, dan Dita. Teman-teman Kapak THP B yang selama kurang lebih 4 tahun bersama dalam suka dan duka selama perkuliahan,

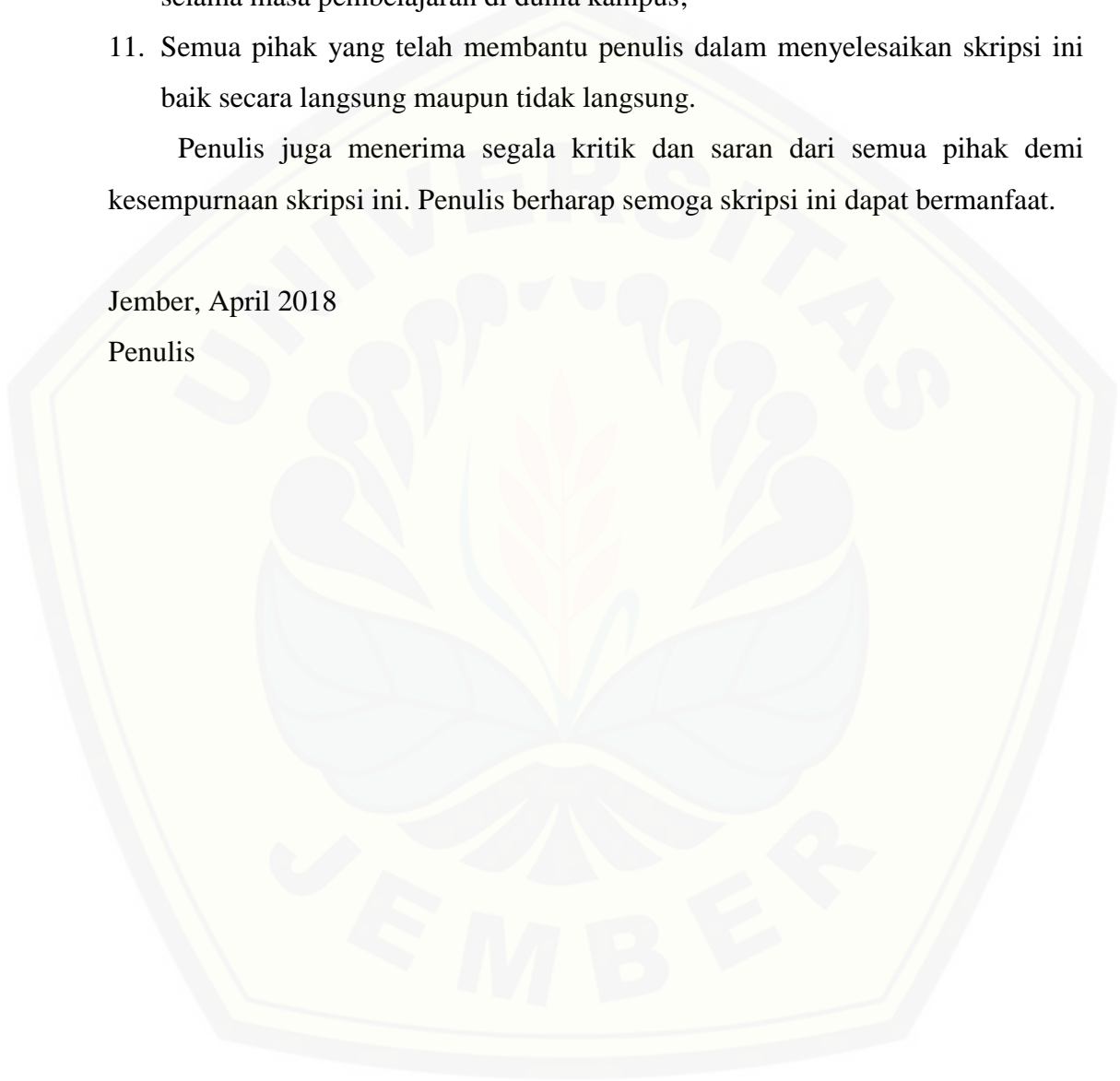
Mikrobiologi Squad Mbak Ike, Intun, Amel, Claudia, Dini, Vika, dan Sari,
serta rekan-rekan Indofood Riset Nugraha 2017-2018;

10. Keluarga besar UK-PSM Symphony Choir Fakultas Teknologi Pertanian yang telah mengajarkan banyak hal dan memberikan pengalaman berharga selama masa pembelajaran di dunia kampus;
11. 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. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, April 2018

Penulis



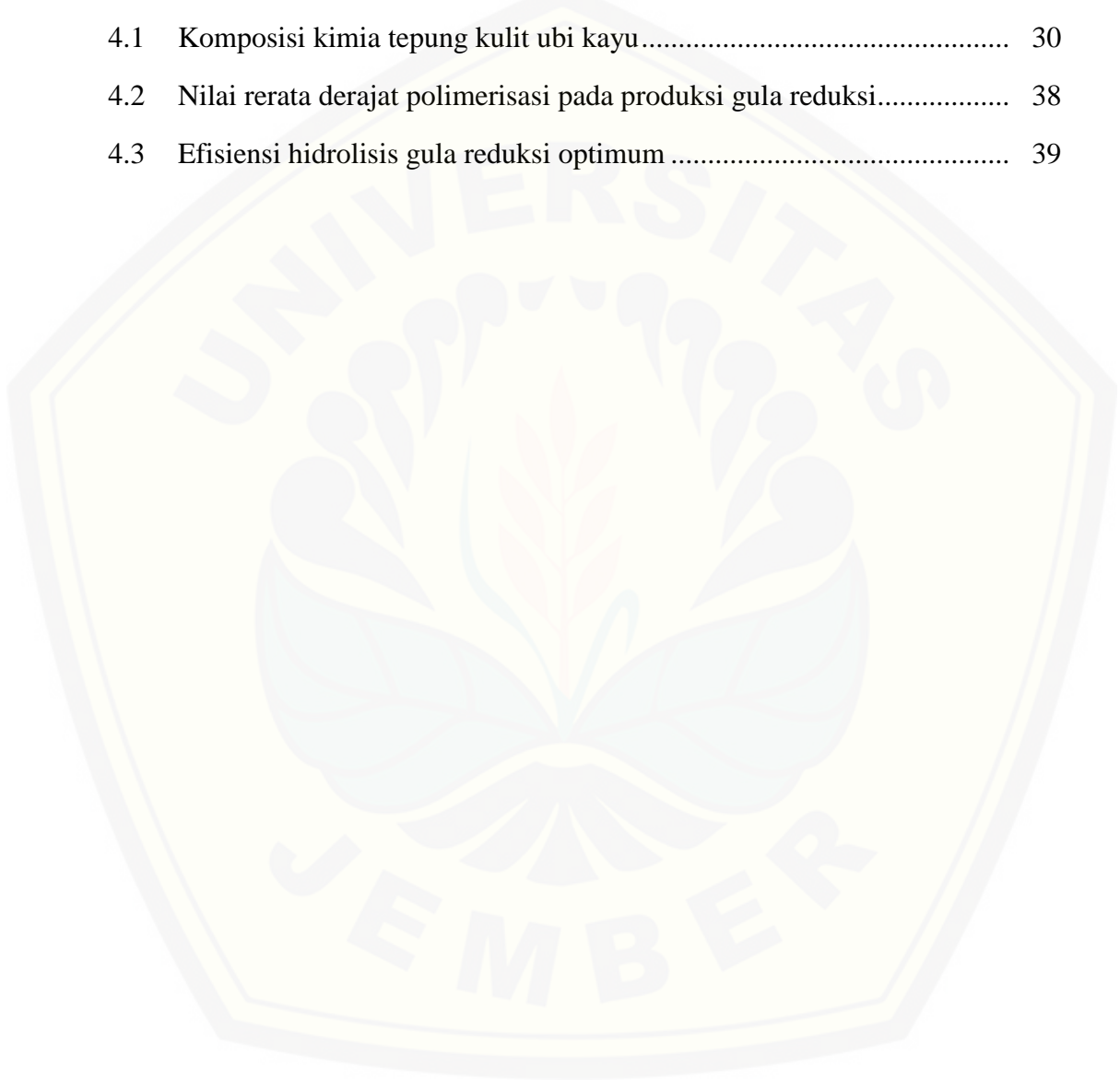
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kulit Ubi Kayu	5
2.2 Lignoselulosa	6
2.2.1 Selulosa.....	7
2.2.2 Hemiselulosa.....	8
2.2.3 Lignin.....	10
2.3 Pati.....	11
2.4 Delignifikasi.....	12
2.5 Hidrolisis Enzimatik	14
2.6 Karakteristik <i>Aspergillus niger</i>, <i>Trichoderma viride</i> dan <i>Acremonium sp.</i> IMI 383068	15
2.6.1 <i>Aspergillus niger</i>	15
2.6.2 <i>Trichoderma viride</i>	16
2.6.3 <i>Acremonium sp.</i> IMI 383068	17
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	19
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.3.1 Rancangan Percobaan.....	20
3.3.2 Rancangan Penelitian	20
3.4 Parameter Pengamatan.....	23

3.5	Prosedur Analisis	24
3.5.1	Analisa Kadar Air.....	24
3.5.2	Analisa Kadar Pati.....	24
3.5.3	Analisa Kadar Lignoselulosa.....	25
3.5.4	Analisa Populasi Mikroba	26
3.5.5	Analisa Kadar Gula Reduksi	26
3.5.6	Analisa Kadar Total Gula Terlarut.....	27
3.5.7	Rerata Derajat Polimerisasi	28
3.5.8	Efisiensi Hidrolisis	28
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1	Komposisi Kimia Tepung Kulit Ubi Kayu	30
4.2	Profil Hidrolisis Kultur Campuran Kapang <i>Aspergillus niger</i>, <i>Trichoderma viride</i>, dan <i>Acremonium sp.</i> IMI 383068	31
4.3	Profil Hidrolisis dengan Perlakuan Perbedaan Konsentrasi Substrat.....	34
4.4	Profil Hidrolisis dengan Perlakuan Perbedaan Tingkat Kecepatan Aerasi	36
4.5	Derajat Polimerisasi	38
4.6	Efisiensi Hidrolisis	39
BAB 5.	PENUTUP.....	42
5.1	Kesimpulan.....	42
5.2	Saran	42
DAFTAR PUSTAKA		43
LAMPIRAN.....		49

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi kimia kulit ubi kayu.....	6
4.1 Komposisi kimia tepung kulit ubi kayu.....	30
4.2 Nilai rerata derajat polimerisasi pada produksi gula reduksi.....	38
4.3 Efisiensi hidrolisis gula reduksi optimum	39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur selulosa	8
2.2 Struktur kimia hemiselulosa	9
2.3 Struktur unit-unit penyusun hemiselulosa	9
2.4 Unit-unit penyusun lignin	10
2.5 Struktur kimia lignin.....	11
2.6 Struktur kimia amilosa dan amilopektin.....	12
2.7 Pengaruh delignifikasi terhadap lignoselulosa	13
3.1 Diagram alir proses pembuatan tepung kulit ubi kayu	21
3.2 Diagram alir proses delignifikasi tepung kulit ubi kayu.....	22
3.3 Diagram alir proses hidrolisis	23
4.1 Perubahan kadar gula reduksi dan populasi kapang selama proses hidrolisis	32
4.2 Perubahan kadar gula reduksi dan populasi kapang selama proses hidrolisis dengan perlakuan perbedaan konsentrasi substrat	34
4.3 Perubahan kadar gula reduksi dan populasi kapang selama proses hidrolisis dengan perlakuan perbedaan tingkat aerasi	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Gula Reduksi dan Populasi Kapang Hasil Penelitian Pendahuluan	49
B. Karakteristik Tepung Kulit Ubi Kayu	52
C. Penentuan Kadar Total Gula Terlarut	53
D. Penentuan Kadar Gula Reduksi	56
E. Data Populasi Mikroba	59
F. Nilai Rerata Derajat Polimerisasi	61
G. Efisiensi Hidrolisis.....	62
H. Dokumentasi Kegiatan.....	63

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil biomassa yang cukup melimpah. Meningkatnya kegiatan industri di Indonesia membuat produk samping limbah biomassa juga semakin tinggi, baik limbah biomassa yang dihasilkan dari industri pertanian maupun perkebunan. Salah satu limbah biomassa produk samping hasil pertanian yang cukup melimpah adalah kulit ubi kayu. Kulit ubi kayu merupakan limbah padat yang dihasilkan oleh agroindustri pengolahan ubi kayu seperti pada industri tapioka, pengolahan keripik, dan turunannya. Menurut Artiyanti dan Soedjono (2011) kulit ubi kayu mengandung 43,63% selulosa, 36,58% hemiselulosa, 7,65% lignin, dan 10,38% pati. Kandungan selulosa, hemiselulosa, dan pati yang cukup tinggi pada kulit ubi kayu berpotensi untuk dijadikan sumber gula pereduksi melalui proses hidrolisis. Pada proses hidrolisis, rantai panjang polisakarida akan dipecah menjadi rantai pendek atau karbohidrat sederhana melalui reaksi kimia menggunakan air (Zamora, 2005). Limbah biomassa kulit ubi kayu yang mengandung polisakarida berupa selulosa, hemiselulosa, dan pati akan dipecah menjadi karbohidrat yang lebih sederhana seperti gula reduksi. Gula reduksi merupakan golongan gula yang memiliki kemampuan untuk mereduksi senyawa penerima electron dikarenakan adanya gugus aldehid atau keton bebas. Gula reduksi yang dihasilkan nantinya dapat dikonversi lebih lanjut menjadi berbagai macam produk seperti alkohol, aseton, butanol, dan produk lain yang memiliki nilai ekonomis lebih tinggi (Darnoko *et al.*, 2001).

Dewasa ini telah banyak penelitian yang mengarah pada pemanfaatan limbah biomassa menjadi gula pereduksi sebagai substrat pembuatan bioetanol melalui proses hidrolisis, baik hidrolisis asam maupun hidrolisis enzimatik. Faiqoh (2017) melaporkan bahwa hidrolisis asam dapat menghasilkan gula reduksi lebih tinggi dibandingkan hidrolisis enzimatik dengan bantuan mikroorganisme pada substrat kulit ubi kayu. Meski memberikan hasil gula

reduksi yang lebih tinggi, hidrolisis enzimatis dipilih karena jauh lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan hidrolisis asam sehingga berpotensi untuk dikembangkan. Menurut Taherzadeh dan Karimi (2007) hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan hidrolisis kimiawi, 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 yang relatif rendah karena tidak ada bahan yang korosif. Hidrolisis secara enzimatis dapat dilakukan menggunakan enzim atau mikroorganisme yang dapat menghidrolisis polisakarida menjadi monomer sederhana seperti gula reduksi. Jenis mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses hidrolisis enzimatis dari limbah biomassa menjadi gula reduksi adalah kapang.

Kapang *Aspergillus niger* mampu menghasilkan enzim amilolitik berupa amilase (Fowler, 1988) yang dapat mendegradasi pati dan enzim selulase (Fowler, 1988) yang dapat mendegradasi selulosa serta menghasilkan enzim xylanase (Villena *et al.*, 2007) yang dapat mendegradasi xylan (hemiselulosa). Kapang *Trichoderma viride* menghasilkan enzim selulase berupa endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase, dan β -1,4-glukosidase (Crueger dan Crueger, 1982) yang dapat mendegradasi komponen selulosa dan menghasilkan enzim endo- β -1,4-xylanase (Ujiie *et al.*, 1991) yang mampu mendegradasi xylan (hemiselulosa). Kapang *Acremonium sp.* IMI 383068 menghasilkan enzim β -1,3-glukanase dan β -1,6-glukanase, dan sebagian besar *Acremonium sp.* dapat menghasilkan enzim selulase (Astutik *et al.*, 2007) yang dapat mendegradasi selulosa dan menghasilkan enzim amilolitik berupa glukoamilase (Marlinda, 2001) yang dapat mendegradasi pati.

Kendala yang dihadapi dalam proses hidrolisis enzimatis menggunakan bantuan mikroorganisme adalah kemampuan mikroorganisme yang masih rendah dalam mendegradasi komponen selulosa, hemiselulosa, dan pati sehingga proses hidrolisisnya tidak efisien. Setelah dilakukan penelitian pendahuluan, penggunaan kultur campuran dari ketiga spesies kapang secara bersamaan saat proses hidrolisis mampu menghasilkan gula reduksi dua kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan kultur tunggal. Penggunaan kultur campuran

pada proses hidrolisis diduga mampu menghasilkan berbagai macam enzim yang dapat mendegradasi komponen selulosa, hemiselulosa, dan pati yang terkandung di dalam kulit ubi kayu. Selain itu, dalam proses pertumbuhannya kapang membutuhkan sumber karbon serta pemenuhan oksigen yang cukup mengingat kapang merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang bersifat aerob. Oleh karena itu perlu adanya optimasi pada penggunaan konsentrasi substrat dan pemberian aerasi saat proses hidrolisis sehingga dapat diperoleh kombinasi perlakuan yang efisien dalam menghasilkan gula reduksi.

1.2 Perumusan Masalah

Selulosa, hemiselulosa, dan pati yang terkandung di dalam tepung kulit ubi kayu merupakan substrat utama yang dibutuhkan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan kapang dalam menghasilkan enzim pendegradasi. Ketiga komponen tersebut akan dipecah menjadi komponen yang lebih sederhana (gula pereduksi) melalui proses hidrolisis enzimatik dengan bantuan mikroorganisme kapang. Penyediaan oksigen terlarut dalam medium fermentasi menjadi faktor penting untuk mempertahankan kondisi aerob sehingga pertumbuhan kapang dapat berjalan dengan baik. Apabila pertumbuhan kapang berjalan dengan baik, diharapkan semakin banyak enzim yang dihasilkan dan semakin banyak pula komponen selulosa, hemiselulosa serta pati yang dapat dikonversi menjadi gula reduksi. Mengingat pentingnya pemenuhan sumber karbon dan penyediaan oksigen terlarut pada medium fermentasi dalam menghasilkan gula reduksi, maka diperlukan optimasi proses hidrolisis dengan mengkombinasikan perlakuan konsentrasi substrat tepung kulit ubi kayu dan tingkat kecepatan pemberian oksigen terlarut (aerasi) yang efisien dalam menghasilkan gula reduksi.

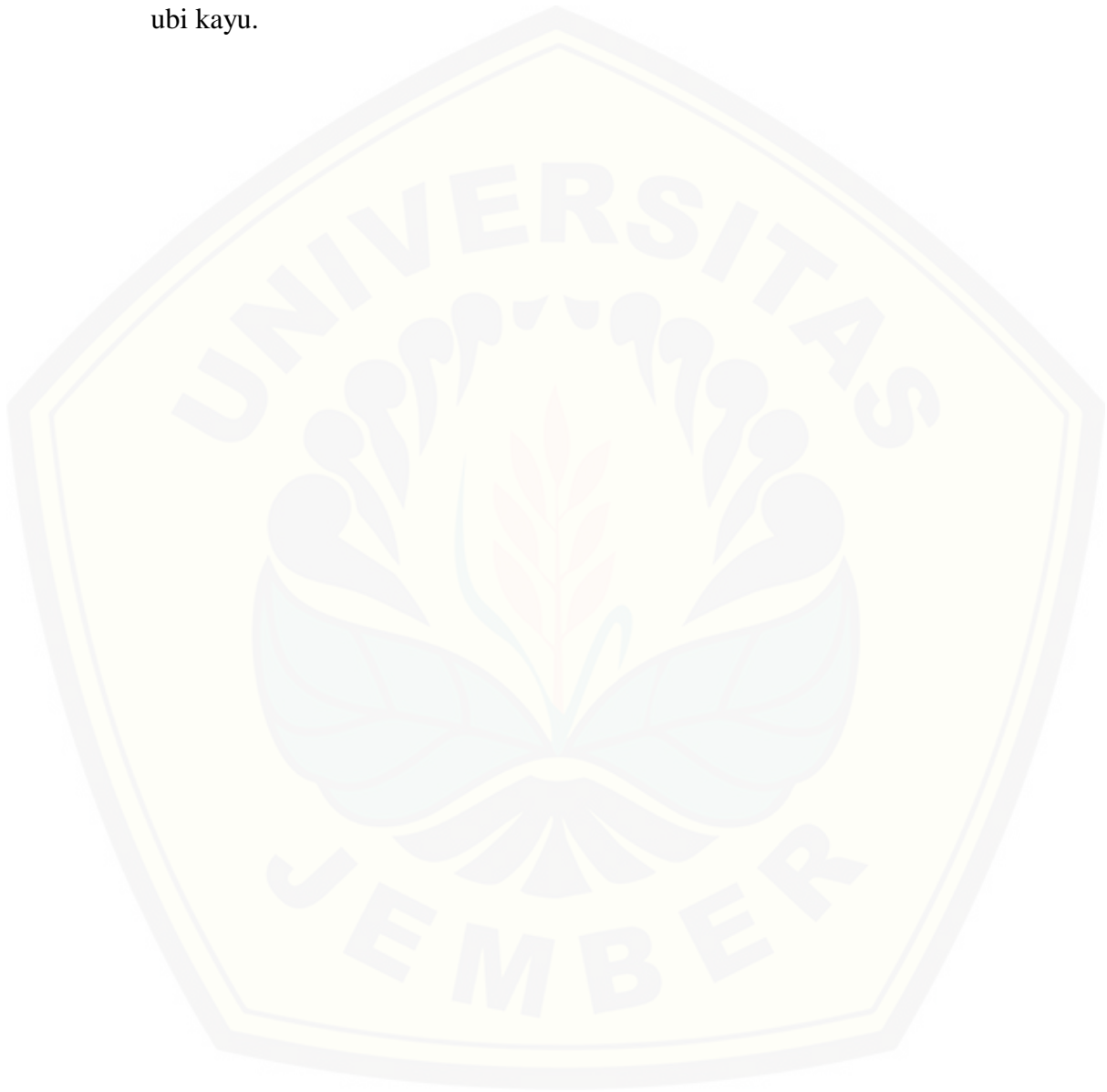
1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kombinasi konsentrasi substrat dan tingkat kecepatan aerasi yang efisien dalam menghasilkan gula reduksi.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya yaitu:

1. Meningkatkan nilai ekonomi kulit singkong.
2. Meningkatkan efektivitas dan efisiensi produksi gula reduksi berbahan kulit ubi kayu.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Kulit Ubi Kayu

Ubi kayu atau singkong merupakan tanaman yang berasal dari Brazilia. Dalam sistematika tumbuhan, ubi kayu termasuk ke dalam kelas *Dicotyledoneae*. Ubi kayu merupakan tanaman pangan berupa perdu dengan nama lain ketela pohon, singkong, atau kasape. Ubi kayu dapat tumbuh di semua jenis tanah dengan pH 4,2 - 4,5, namun tidak dapat tumbuh diatas pH basa (pH>8) (Sriroth *et al.*, 2012). Tanaman ubi kayu dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Famili : *Euphorbiaceae*
Genus : *Manihot*
Spesies : *Manihot esculenta*

Ubi kayu terdiri atas beberapa lapisan yaitu lapisan paling luar adalah lapisan epidermis berwarna coklat dan tipis, lapisan kedua merupakan lapisan dermis dengan ketebalan 2-3 mm dan lapisan ketiga adalah daging umbi (Sediaotama dan Djaeni, 1987). Ubi kayu memiliki batang bulat dan bergerigi yang terjadi dari bekas pangkal tangkai daun, bagian tengahnya bergabus dan termasuk tumbuhan yang tinggi. Tanaman ubi kayu dapat mencapai ketinggian 1-4 meter. Ubi kayu mempunyai panjang fisik rata-rata bergaris tengah 2-3 cm dan panjang 50-80 cm, tergantung dari jenis ubi kayu yang ditanam. Daging umbinya berwarna putih atau kekuning-kuningan.

Ubi kayu merupakan bahan pangan dengan sumber karbohidrat yang tinggi setelah beras, dan jagung. Kandungan karbohidrat ubi kayu berkisar 32-35% dengan kadar pati sekitar 83,8% (Prihandana, 2008). Menurut Charles *et al.* (2008) ubi kayu mengandung pati berkisar antara 77-94% b/b, protein 1,7-3,8% b/b, lipid 0,2-1,4% b/b, serat 1,5-3,7% b/b (selulosa dan lignin) dan abu 1,8-2,5%

b/b. Pada umumnya ubi kayu sering dimanfaatkan sebagai bahan baku industri pellet atau pakan ternak, tepung tapioka pembuatan etanol, tepung gaplek, ampas tapioka yang digunakan dalam industri kue, roti, kerupuk, dan lain-lain (Rukmana, 1997). Komposisi kimia kulit ubi kayu tersaji dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi kimia kulit ubi kayu

Komponen	%
Selulosa	43,626
Hemiselulosa	36,58
Amilum /pati	10,384
Lignin	7,646
Lainnya	1,764

Sumber: Artiyani dan Soedjono (2011)

Menurut data BPS (2015) produktivitas ubi kayu sebesar 299.56 kw/ha dengan produksi sebesar 21.790.956 ton dan menghasilkan limbah kulit sebesar ±4.3 juta ton dengan kandungan karbohidrat sekitar 50% dari kandungan karbohidrat bagian umbinya (Grace, 1977). Kulit ubi kayu yang diperoleh dari produk tanaman ubi kayu (*Manihot esculenta* Cranz atau *Manihot utilissima* Pohl) merupakan salah satu limbah utama pangan di negara-negara berkembang. Semakin luas areal tanaman ubi kayu diharapkan produksi yang dihasilkan semakin tinggi dan semakin tinggi pula limbah kulit yang dihasilkan. Setiap kilogram ubi kayu dapat menghasilkan 15 –20 % kulit umbi. Kandungan pati kulit ubi kayu yang cukup tinggi, memungkinkan digunakan sebagai sumber energi bagi mikroorganisme (Muhiddin *et al.*, 2000). Kulit ubi kayu mempunyai komposisi yang terdiri dari karbohidrat dan serat. Menurut Grace (1977) persentase kulit ubi kayu yang dihasilkan berkisar antara 8-15% dari berat umbi yang dikupas dengan kandungan karbohidrat sekitar 50% dari kandungan karbohidrat bagian umbinya.

2.2 Lignoselulosa

Lignoselulosa adalah komponen utama tanaman yang menggambarkan jumlah sumber bahan organik yang dapat diperbaharui. Pada umumnya

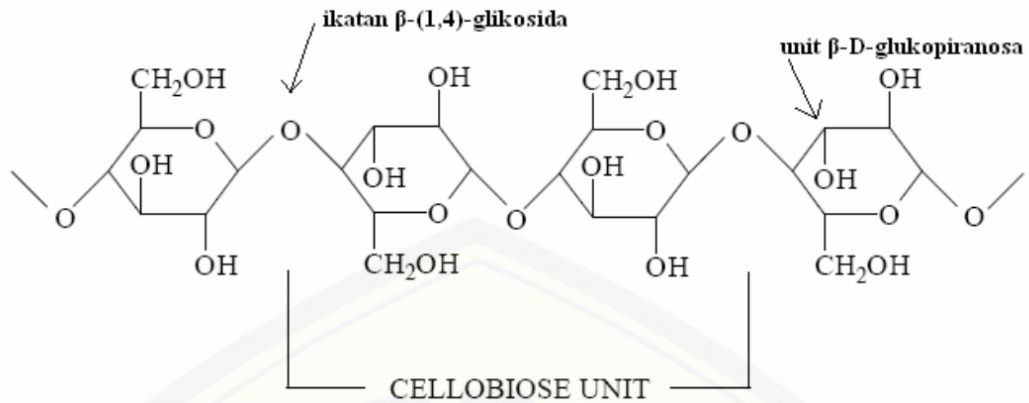
lignoselulosa mengandung tiga komponen utama yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang dihasilkan dari proses fotosintesis. Komposisi unsur ini dapat bervariasi sesuai spesies tanaman. Selain itu, komposisi di dalam suatu tanaman bervariasi tergantung dengan usia dan tingkat pertumbuhannya (Perez *et al.*, 2002).

2.2.1 Selulosa

Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman. Kandungan selulosa pada dinding sel tanaman tingkat tinggi sekitar 35-50% dari berat kering tanaman (Lynd *et al.*, 2002). Selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β -1,4 glukosida dalam rantai lurus. Bangun dasar selulosa berupa suatu selobiosa yaitu dimer dari glukosa. Rantai panjang selulosa terhubung secara bersama melalui ikatan hidrogen (Perez *et al.*, 2002). Ikatan β -1,4 glukosida pada serat selulosa dapat dipecah menjadi monomer glukosa dengan cara hidrolisis asam atau enzimatis.

Selulosa merupakan polisakarida yang mempunyai fungsi sebagai unsur struktural pada dinding sel tumbuhan tingkat tinggi dan juga polisakarida terbanyak yang ditemukan pada tanaman (Linder dan Teeri, 1997). Selulosa berbentuk serabut, liat, tidak larut dalam air, dan ditemukan terutama pada bagian berkayu pada tumbuhan. Molekul-molekul selulosa seluruhnya berbentuk linier, dimana setiap molekul glukosa sebagai penyusun polimer dapat berotasi hingga 180° (Brown *et al.*, 1996).

Struktur kimia selulosa adalah β -1,4-glukosa dihubungkan dengan ikatan β -1,4-glukosida (Fengel dan Wegener, 1995). Menurut Sun dan Cheng (2002) ikatan intramolekul terjadi antara monomer glukosa dalam satu rantai selulosa yang sama, sedangkan ikatan intermolekul terjadi antara monomer glukosa dari dua rantai selulosa yang berdekatan. Struktur kimia selulosa disajikan pada Gambar 2.1.

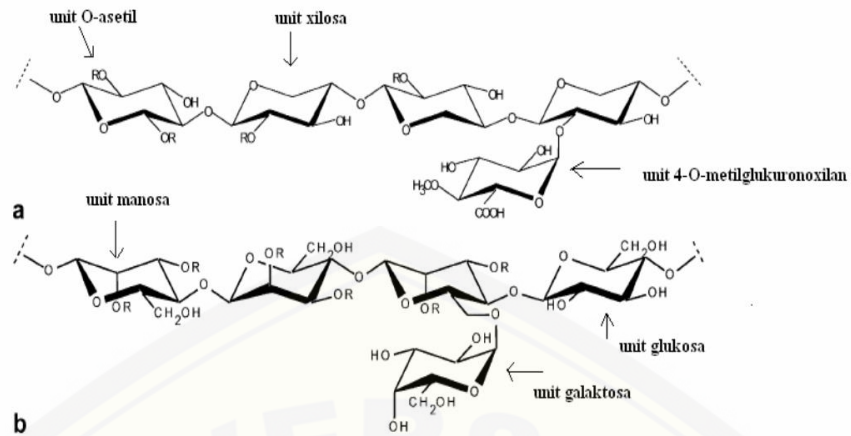


Gambar 2.1 Struktur Selulosa (Ibrahim, 1998)

Dinding primer memiliki ketebalan 0,1-0,2 μm dan mengandung jaringan mikrofibril selulosa yang mengelilingi dinding sekunder yang relative lebih tebal (Chahal, 1998). Selulosa pada setiap lapisan dinding sekunder terbentuk sebagai lembaran tipis yang tersusun oleh rantai panjang residu β -1,4-glukosa digabungkan dengan ikatan β -1,4-glikosida yang disebut serat dasar (Perez *et al.*, 2002).

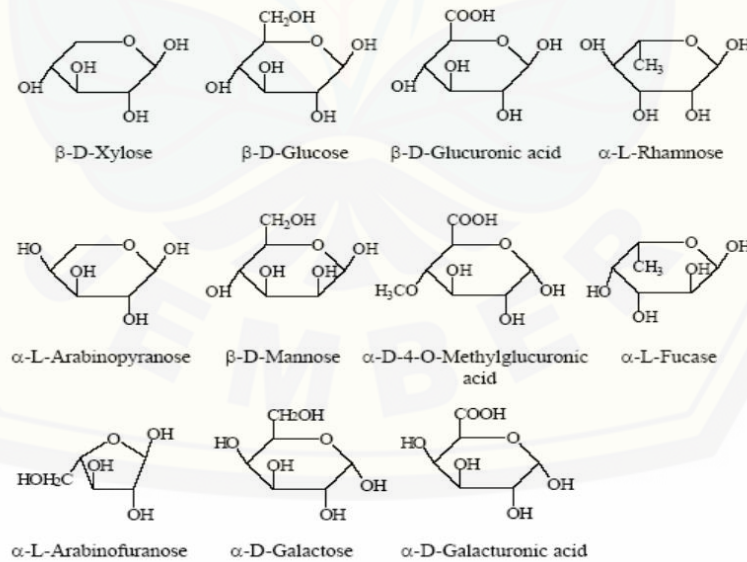
2.2.2 Hemiselulosa

Hemiselulosa yang merupakan rantai polimer bercabang dan memiliki struktur yang sangat kompleks karena tersusun dari jenis gula yang beragam dan tersusun atas berbagai intermonomerik (Deobald dan Crawford, 2002). Komponen terbesar hemiselulosa sel tanaman yaitu xilan yang merupakan jenis polisakarida paling melimpah ke-2 di alam setelah selulosa (Kubata *et al.*, 1994; Saha, 2002; Subramaniyan dan Prema, 2002). Struktur kimia hemiselulosa disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur kimia hemiselulosa; a. *O-acetyl-4-O-methylglucuronoxylan*, dan b. *O-acetyl-galactoglucomannan* (Perez et al., 2002)

Hemiselulosa memiliki rantai polimer yang pendek dan tak berbentuk, oleh karena itu sebagian besar dapat larut dalam air. Rantai utama hemiselulosa dapat berupa homopolimer (umumnya terdiri dari satu jenis gula yang berulang) atau juga berupa heteropolimer (campurannya beberapa jenis gula) (Ibrahim, 1998). Struktur unit-unit penyusun hemiselulosa disajikan pada Gambar 2.3.



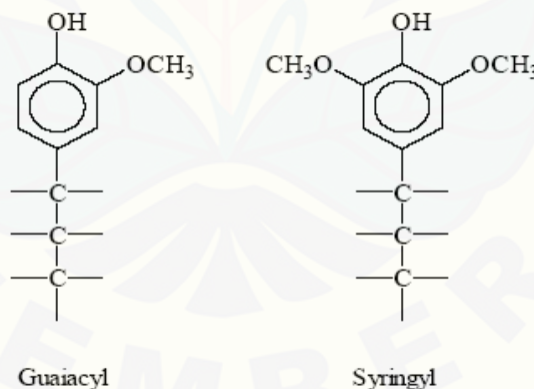
Gambar 2.3 Struktur unit-unit penyusun hemiselulosa (Ibrahim, 1998)

Perbedaan hemiselulosa dengan selulosa antara lain selulosa hanya mengandung glukosa, sedangkan hemiselulosa mengandung monomer gula yang

terdiri atas xilosa, manosa, galaktosa, rhamnosa dan arabinosa, dengan komponen utama berupa xilosa dan manosa. Struktur hemiselulosa berupa rantai bercabang, amorf, dengan ikatan yang lebih lemah dan lebih mudah larut daripada selulosa.

2.2.3 Lignin

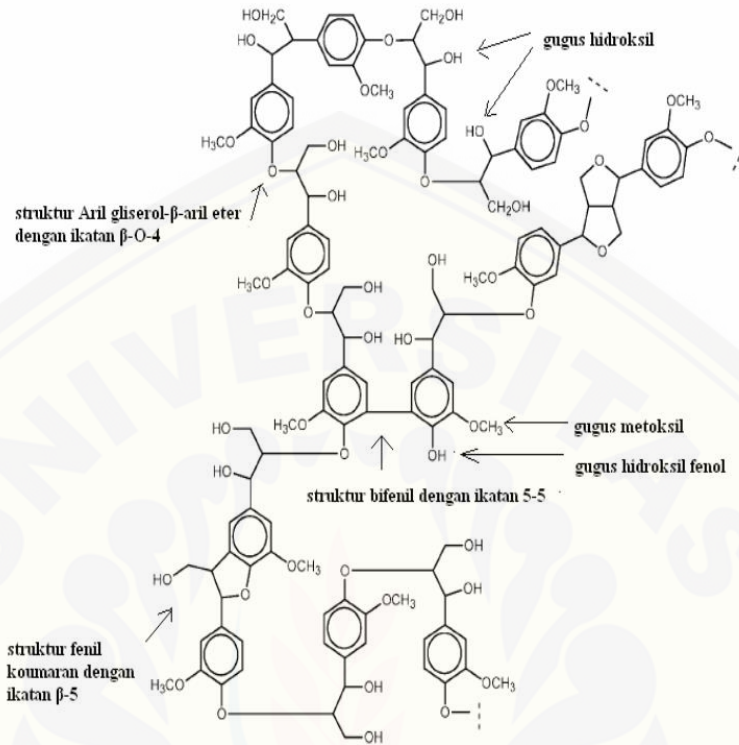
Menurut Sun (2002) lignin tersusun atas jaringan polimer enolik yang berfungsi merekatkan serat selulosa dan hemiselulosa, sehingga menjadi sangat kuat. Adanya ikatan arilalkil dan eter menyebabkan lignin tahan terhadap hidrolisis (Judoamidjojo *et al.*, 1989). Struktur molekul lignin sangat berbeda bila dibandingkan polisakarida karena terdiri atas sistem aromatik yang tersusun atas unit-unit fenilpropana: unit *guaiacyl* (G) dari prekursor *trans*-koniferil alkohol, unit *syringyl* (S) dari prekursor *trans*-sinapil alkohol, dan *p*-hidroksipenil (H) dari prekursor *trans*-*p*-kumaril alkohol (Palonen, 2004). Seperti yang digambarkan dalam Gambar 2.4. Unit-unit fenilpropana ini kemudian berikatan dengan struktur-struktur minor sehingga membentuk suatu jaringan polimer yang dikenal dengan nama lignin.



Gambar 2.4 Unit-unit penyusun lignin (Ibrahim, 1998)

Lignin adalah polimer berkadar aromatik-fenolik yang tinggi, berwarna kecoklatan dan relatif lebih mudah teroksidasi. Lignin memiliki berat molekul yang bervariasi antara 1000 sampai dengan 20.000, tergantung pada sumber biomasanya. Lignin relatif stabil terhadap aksi kebanyakan larutan asam mineral, tetapi larut dalam larutan basa panas dan larutan ion bisulfit panas. Lignin

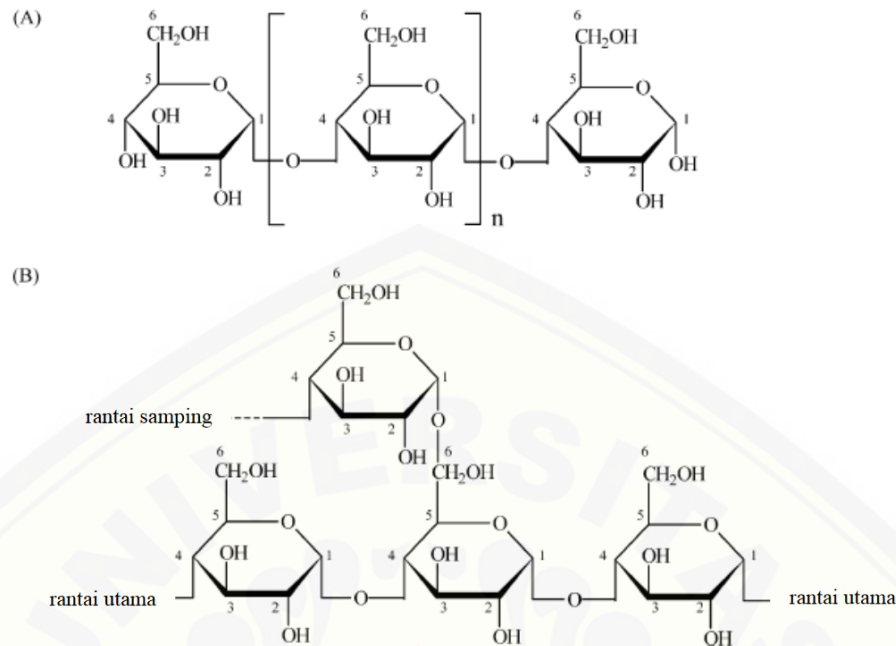
memiliki titik pelunakan dan titik leleh rendah. Struktur lignin disajikan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur kimia lignin (Perez *et al.*, 2002)

2.3 Pati

Pati adalah karbohidrat yang terdiri dari amilosa dan amilopektin. Amilosa adalah komponen minor dari pati dan mempunyai struktur linier yang terbentuk dari ikatan α -1,4 glikosidik dengan derajat polimerisasi antara 100-1000 unit glukosa. Amilopektin terbentuk dari ikatan α -1,4 glikosidik dan bercabang pada ikatan α -1,6 glikosidik. Jumlah molekul dengan rantai yang bercabang yaitu amilopektin sangat banyak dengan derajat polimerisasi $10^5 - 3 \times 10^6$ unit glukosa (Jacobs dan Delcour, 1998). Rasio antara amilosa dan amilopektin di dalam pati sangat bervariasi dan berpengaruh besar terhadap kelarutan, kekentalan, pembentukan gel, dan suhu gelatinisasi dari pati (Martinez *et al.*, 2004). Struktur amilosa dan amilopektin disajikan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur kimia amilosa (A) dan amilopektin (B) (Martinez *et al.*, 2004)

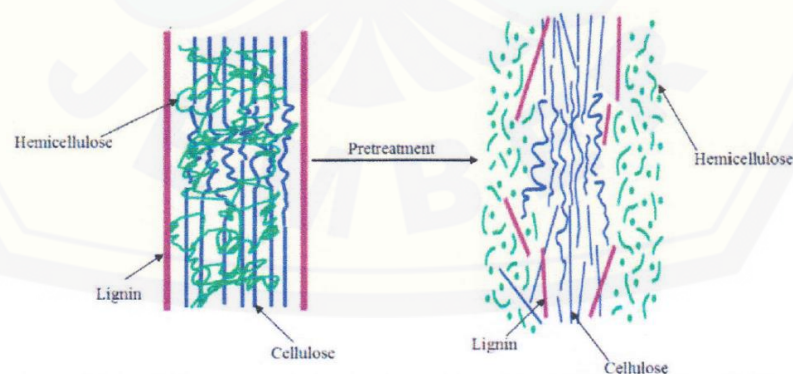
Amilosa dan amilopektin di dalam granula pati terkemas rapat melalui ikatan inter dan intra molekul. Amilosa dan amilopektin terorganisir menjadi bagian amorf dan kristalin. Hal ini menyebabkan pati bersifat tidak larut dalam air dingin dan seringkali resisten terhadap perlakuan kimia ataupun enzim (Mitsuiki *et al.*, 2005; Maarel *et al.*, 2002). Agar membuat pati mudah diakses oleh enzim, maka pati harus digelatinisasi terlebih dahulu. Gelatinisasi merupakan suatu proses perlakuan panas untuk memecah atau membuka granula pati sehingga terpapar terhadap hidrolisis enzim.

2.4 Delignifikasi

Delignifikasi merupakan proses pelarutan lignin dalam proses pulping. Delignifikasi sangat penting dilakukan karena degradasi lignin dapat meningkatkan permukaan kontak enzim, menghilangkan senyawa-senyawa penghalang enzim dan mikroba serta memudahkan hidrolisis selulosa dan hemiselulosa (Ingram *et al.*, 1999). Hamelink *et al.* (2005) melaporkan, bahwa delignifikasi dapat meningkatkan gula yang diperoleh dari 20% menjadi sekitar

90%. Delignifikasi juga dapat mengurangi kristalinitas selulosa dan meningkatkan porositas bahan (Sun dan Cheng, 2002). Menurut Fridia (1989), perlakuan pendahuluan atau delignifikasi dapat dilakukan secara fisik (penggilingan, pemanasan dengan uap, radiasi atau pemanasan dengan udara kering) dan kimia (pelarut, larutan pengembang, gas SO₂). Foody *et al.* (1999) menambahkan bahwa perlakuan pendahuluan dapat dilakukan dengan mengkombinasikan antara perlakuan fisik dan kimia. Delignifikasi juga dapat dilakukan secara biologis menggunakan mikrobiologis.

Pre-treatment dengan basa efektif untuk membebaskan serat selulosa dan sebagian hemiselulosa pada residu padatan (Zhang *et al.*, 2010). NaOCl merupakan basa lemah yang dapat mengoksidasi dan melarutkan lignin dalam biomassa (Douglas, 1987). Ruriani *et al.* (2012) melaporkan bahwa penggunaan NaOCl dengan konsentrasi rendah (1%) dapat menurunkan kadar lignin pada tongkol jagung dan ampas tebu hingga 60%. Menurut Larsson (2002) delignifikasi dengan basa tidak menghasilkan senyawa-senyawa inhibitor seperti delignifikasi dengan asam yang menghasilkan furfural, *5-hydroxymethylfurfural* (HMF), *lavulinic acid*, *4-hydroxybenzoic acid*, *vanilic acid*, vanillin, dan formaldehid yang dapat menghambat proses hidrolisis dan fermentasi. Pengaruh proses delignifikasi terhadap lignoselulosa dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Pengaruh delignifikasi terhadap lignoselulosa (Kumar *et al.*, 2009)

Pemecahan molekul selulosa dihambat oleh tingginya derajat polimerisasi dan kristalin molekul selulosa serta kandungan ligin yang membungkus molekul

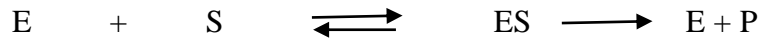
selulosa. Hidrolisis selulosa sulit terjadi jika derajat polimerisasi, kristalinitas dan kandungan lignin belum berkurang, sehingga produktivitas mikroorganisme dalam menghasilkan selulase rendah (Sun dan Cheng, 2002). Perlakuan awal yang efisien harus dapat membebaskan struktur kristal selulosa dengan memperluas daerah amorf dan membebaskan dari lapisan lignin (Assadam, 2014).

2.5 Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis adalah 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*) (Taherzadeh 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.

Enzim adalah satu atau beberapa gugus polipeptida atau protein yang berfungsi sebagai katalis dalam suatu reaksi kimia. Hidrolisis enzimatis 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 (Taherzadeh dan Karimi, 2008). (Hamelinck *et al.*, 2005) menambahkan 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 dan 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, kombinasi asam dan enzim, serta enzim dan enzim (Muthuvelayudham dan Viruthagiri, 2007; Patel *et al.*, 2007).

2.6 Karakteristik *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp.*

IMI 383068

2.6.1 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan jenis mikroorganisme yang termasuk dalam genus *Aspergillus*, famili *Eurotiaceae* dan ordo *Eurotiales*. *Aspergillus niger* mempunyai miselium bercabang dan berseptat. Pada umumnya kapang bersifat aerob dan tumbuh baik pada suhu 25-30°C, namun genus *Aspergillus* dapat tumbuh pada suhu 35-37 °C. Kapang jenis ini dapat tumbuh baik pada suhu 30 °C dengan pH optimum 7,0 atau agak asam dan bersifat tidak tahan panas.

Aspergillus niger dalam media pertumbuhan dapat langsung mengonsumsi molekul-molekul sederhana seperti gula dan komponen lain yang larut disekitar hifa, namun untuk molekul-molekul yang lebih kompleks seperti selulosa, pati dan protein harus dipecah terlebih dahulu sebelum masuk ke dalam sel. Pembentukan enzim ekstraseluler *Aspergillus niger* berlangsung lebih baik pada suhu kamar yaitu 25-28°C dibanding dengan suhu optimum pertumbuhannya (37,8 °C). Sintesis enzim akan menurun pada suhu lebih dari 30 °C karena energi respirasi lebih banyak dipergunakan untuk pembentukan spora dari pada untuk membentuk miselium.

Aspergillus niger dikenal sebagai kapang penghasil asam sitrat, anilin, pektinase, selulase, β -1,4-glikan hidrolase, protease, α -amilase, glukamilase, maltase, β -galaktosidase, α -glukosidase, β -glukosidase, asam glukonat, glukosa oksidase, asam oksalat, fosfodiesterase, ribonuklease, pupulan 4- glukanohidrolase,

β -xilosidase, xilanase dan lipase (Selvakumar *et al.*, 1996). Fowler (1988) juga melaporkan bahwa kapang *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim amilase dan selulase. *Aspergillus niger* dapat memproduksi enzim lignoselulolitik seperti enzim selulase dan xylanase (Villena *et al.*, 2007).

2.6.2 *Trichoderma viride*

Trichoderma viride merupakan salah satu jenis kapang yang mudah dilihat karena memiliki penampakan seperti kapas, namun ketika spora telah timbul akan tampak berwarna hijau tua. Mikroorganisme jenis ini mampu memproduksi enzim selulase kompleks yaitu endoselulase dan eksoselulase. *Trichoderma viride* dapat tumbuh optimal pada pH 4, dan untuk memproduksi enzim selulase pH optimum mendekati pH 3. Selama memproduksi enzim, pH dipertahankan pada kondisi 3-4 karena apabila pH dibawah 2 maka akan terjadi inaktivasi enzim. Suhu optimum untuk pertumbuhan mikroba jenis ini yaitu antara 32-35°C dan sedangkan untuk memproduksi enzim antara 25-28°C. Enzim selulase *Trichoderma viride* optimum pada kondisi pH 4 dan akan tetap stabil pada pH 3-7 dengan suhu optimum 50°C dan aktivitasnya akan menurun pada suhu lebih dari 50°C (Arnata, 2009).

Menurut Wood (1985) *Trichoderma viride* merupakan jenis kapang yang mampu menghancurkan selulosa tingkat tinggi dan memiliki kemampuan mensintesis beberapa faktor esensial untuk melarutkan bagian selulosa yang terikat kuat dengan ikatan hidrogen. Selulosa yang terikat tersebut diuraikan menjadi glukosa dan gula sederhana dengan menggunakan enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang tersebut (Mandels, 1982). Menurut Volk (2004), keunggulan kapang *Trichoderma viride* sebagai penghasil enzim selulase dikarenakan kapang ini dapat menghasilkan selulase lengkap yang dibutuhkan untuk menghidrolisis selulosa kristal. Miselium kapang ini dapat menghasilkan suatu enzim yang bermacam-macam, termasuk enzim selulase dan kitinase. Kapang umumnya memiliki selulase karena habitatnya pada bahan-bahan organik yang mengandung selulosa. Selulase terdiri dari komponen endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase dan β -1,4 glukosidase (selobiase) (Crueger dan Crueger, 1982).

Menurut Gilbert dan Tsao (1983), selulase yang dihasilkan oleh *Trichoderma viride* mengandung komponen terbesar berupa selobiase dan β -1,4-glukan-selobiohidrolase dalam jumlah kecil. Seluruh enzim tersebut bersifat hidrolitik dan bekerja baik secara berturut-turut atau bersamaan. Selobiohidrolase adalah enzim yang memiliki afinitas terhadap selulosa tingkat tinggi yang mampu memecah selulosa Kristal, sedangkan endoglukanase bekerja pada selulosa amorf (Coughlan, 1989). Ujiie *et al.* (1991) juga menyatakan bahwa *Trichoderma viride* selain menghasilkan enzim selulase, mikroorganisme jenis ini juga dapat menghasilkan enzim endo-1,4- β -xilanase yang mampu mendegradasi xilan. Mikroorganisme jenis *Trichoderma* mampu memetabolisme gula dari golongan pentosa maupun heksosa dan memiliki karakteristik yang tidak terlalu sensitif terhadap material-material lignoselulistik (Larsson *et al.*, 1999).

2.6.3 *Acremonium sp.* IMI 383068.

Sebagian besar *Acremonium sp.* mampu memproduksi enzim glukoamilase (Marlida, 2001). Selain itu, *Acremonium sp.* juga memproduksi enzim selulase yang dapat mendegradasi bahan berlignoselulosa (Astutik *et al.*, 2007). *Acremonium sp.* IMI 383068 merupakan jamur yang dapat menghasilkan enzim (1 \rightarrow 3)- β -glukanase dan (1 \rightarrow 6)- β -glukanase yang merupakan enzim ekstraseluler (Jayus, 2003). Sebagian besar enzim ekstraseluler bersifat hidrolitik, yang berarti bahwa enzim ini menguraikan molekul kompleks menjadi molekul molekul yang lebih sederhana atau molekul yang lebih kecil. Enzim (1 \rightarrow 6)- β -glukanase dapat bekerja optimal pada suhu 40 $^{\circ}$ C hingga 50 $^{\circ}$ C pada pH 5 - 6,5.

Enzim bekerja secara spesifik, yang artinya setiap jenis enzim hanya dapat bekerja pada satu macam substrat. Hal ini disebabkan perbedaan struktur kimia pada setiap enzim yang bersifat tetap. Begitu juga dengan enzim (1 \rightarrow 6)- β -glukanase dari kapang *Acremonium sp.* IMI 383068, enzim ini mendegradasi β -glukan yang memiliki ikatan (1 \rightarrow 6)- β -glikosidik.

Enzim (1 \rightarrow 6)- β -glukanase memiliki massa molekul 41,2 kDa. Memiliki pH isoelektrik (pI) 4,5 dan aktivitas optimal pada pH 6,5 pada suhu 40 $^{\circ}$ C dan 50 $^{\circ}$ C pada pH 5. Termasuk enzim endo-hidrolitik yaitu enzim yang menghidrolisis

substrat dari ujung rantai secara acak. Enzim yang dihasilkan *Acremonium sp.* IMI 383068 pada pustulan lebih banyak daripada laminarin. Enzim (1→6)- β -glucanase hanya mampu menghidrolisa substrat utamanya yang berikatan (1→6)- β -glukosidik.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu penelitian dimulai pada bulan Mei sampai dengan bulan Desember 2017.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan baku dalam penelitian yaitu kulit ubi kayu yang diperoleh dari UKM pengolahan keripik singkong di Desa Baratan-Jember. Bahan kimia yang digunakan meliputi NaOCl (CV. LUMADA bitha SUKSES), *mineral salt solution* (merck), *yeast extract* (merck), asam sitrat (merck), NaOH (merck), *Malt Extrat Agar* (merck), NaCl (merck), dietil eter (merck), alkohol (one med), HCl (merck), *reagen dinitrosalisilic acid* (DNS) (himedia), fenol (merck), H₂SO₄ (merck). Kultur mikroorganisme yang digunakan adalah kapang *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian dan *Acremonium sp.* IMI 383068 yang diperoleh dari Laboratorium *Center for Development Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan yaitu biofermentor (Applikon Biotechnology-ex control-Netherland), inkubator (Scientific Series 2000-Jerman), *laminar air flow* (Crumair Model 9005 FL-Espana), autoklav (SA 300VL-Japan), *shaking incubator* (WIS-20R-Berlin), *refrigerated macrocentrifuge* (Model-2-16 kl-Jerman), spektrofotometer (Genesys 10 UV VIS-China), *colony counter* (Funke

Gerber-UK), oven (Memmert-Jerman), Blender (National), ayakan Tyler 100 mesh, digital pH meter, dan *glasswore* penelitian.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan dua faktor yaitu tingkat kecepatan aerasi dan konsentrasi substrat dengan kombinasi perlakuan sebagai berikut:

Tingkat Aerasi	A0	A1	A2
Kadar substrat			
B1	A0B1	A1B1	A2B1
B2	A0B2	A1B2	A2B2

Keterangan :

A0 : tingkat kecepatan aerasi 0 L/menit

A1 : tingkat kecepatan aerasi 0,3 L/menit

A2 : tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/menit

B1 : Konsentrasi substrat 2% (b/v)

B2 : Konsentrasi substrat 3% (b/v)

Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan produksi sebanyak tiga kali sehingga diperoleh 18 satuan perlakuan dan pengulangan analisa pada hidrolisat sebanyak tiga kali pada setiap perlakuan. Data hasil penelitian diolah dengan statistik sederhana seperti rerata dan standart deviasi. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk ilustrasi tabel dan grafik untuk mempermudah interpretasi data.

3.3.2 Rancangan Penelitian

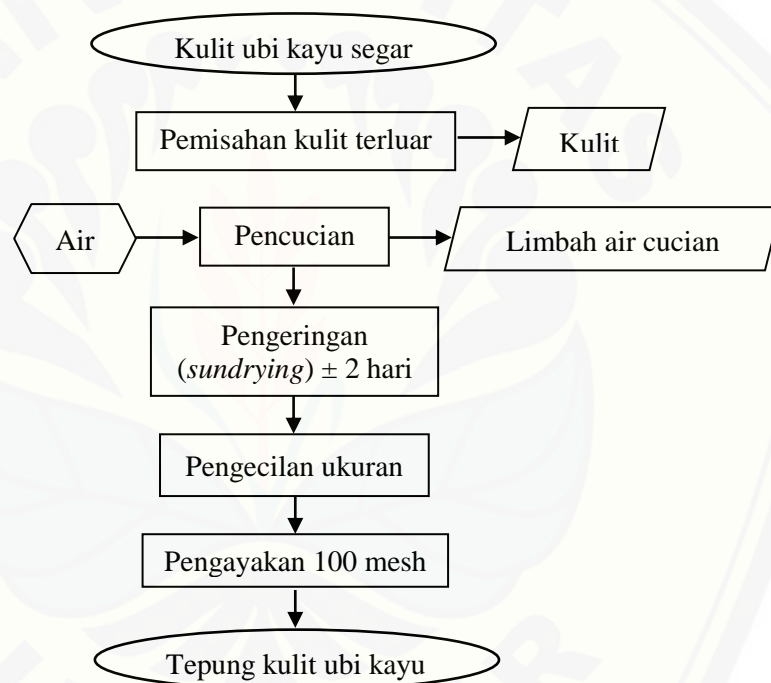
Penelitian ini terdiri dari 2 tahapan yaitu preparasi bahan baku dan penelitian utama.

a. Preparasi Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit ubi kayu. Preparasi bahan baku terdiri dari dua tahap yaitu pembuatan tepung kulit ubi kayu dan delignifikasi tepung kulit ubi kayu.

1) Pembuatan Tepung Kulit Ubi Kayu

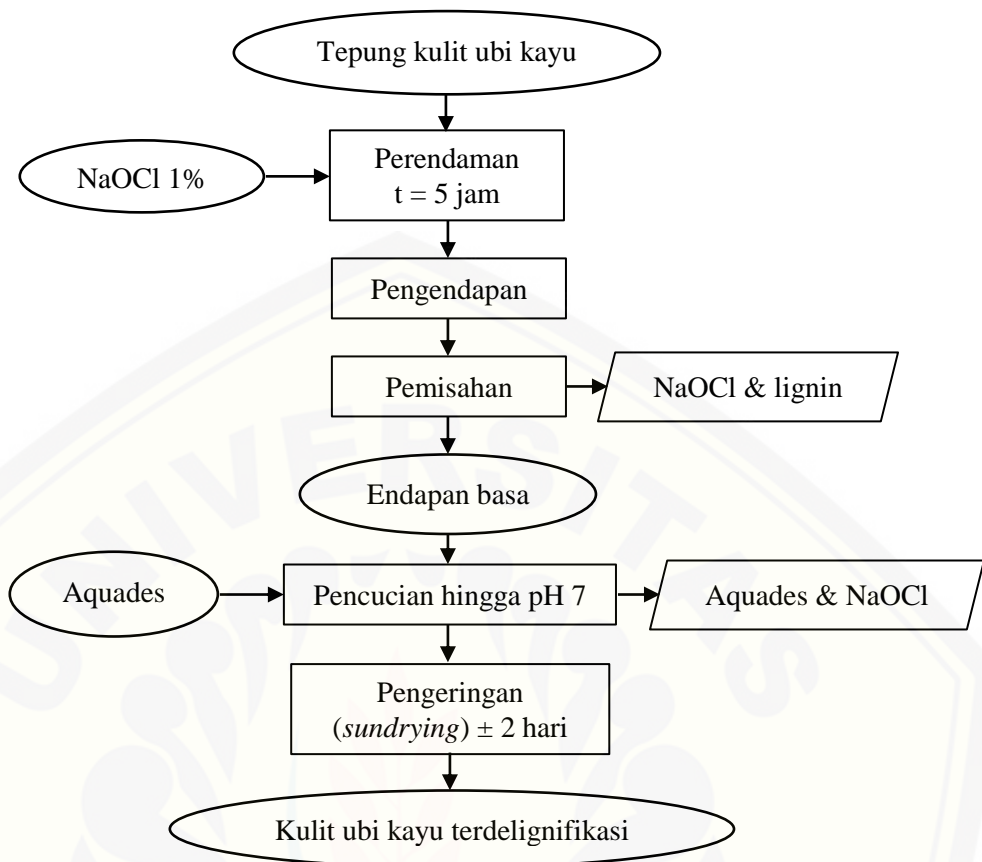
Kulit ubi kayu segar yang diperoleh dari UKM pengolahan keripik singkong di Desa Baratan-Jember dibersihkan kulit terluarnya yang berwarna coklat dan dilakukan pencucian hingga bersih. Kulit ubi kayu yang telah bersih kemudian dilakukan pengeringan menggunakan sinar matahari selama ± 2 hari. Selanjutnya kulit ubi kayu yang telah kering dilakukan pengecilan ukuran menggunakan blender dan dilakukan pengayakan menggunakan ayakan dengan ukuran 100 mesh. Diagram alir proses pembuatan tepung ubi kayu dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram alir proses pembuatan tepung kulit ubi kayu

2) Delignifikasi Tepung Kulit Ubi Kayu

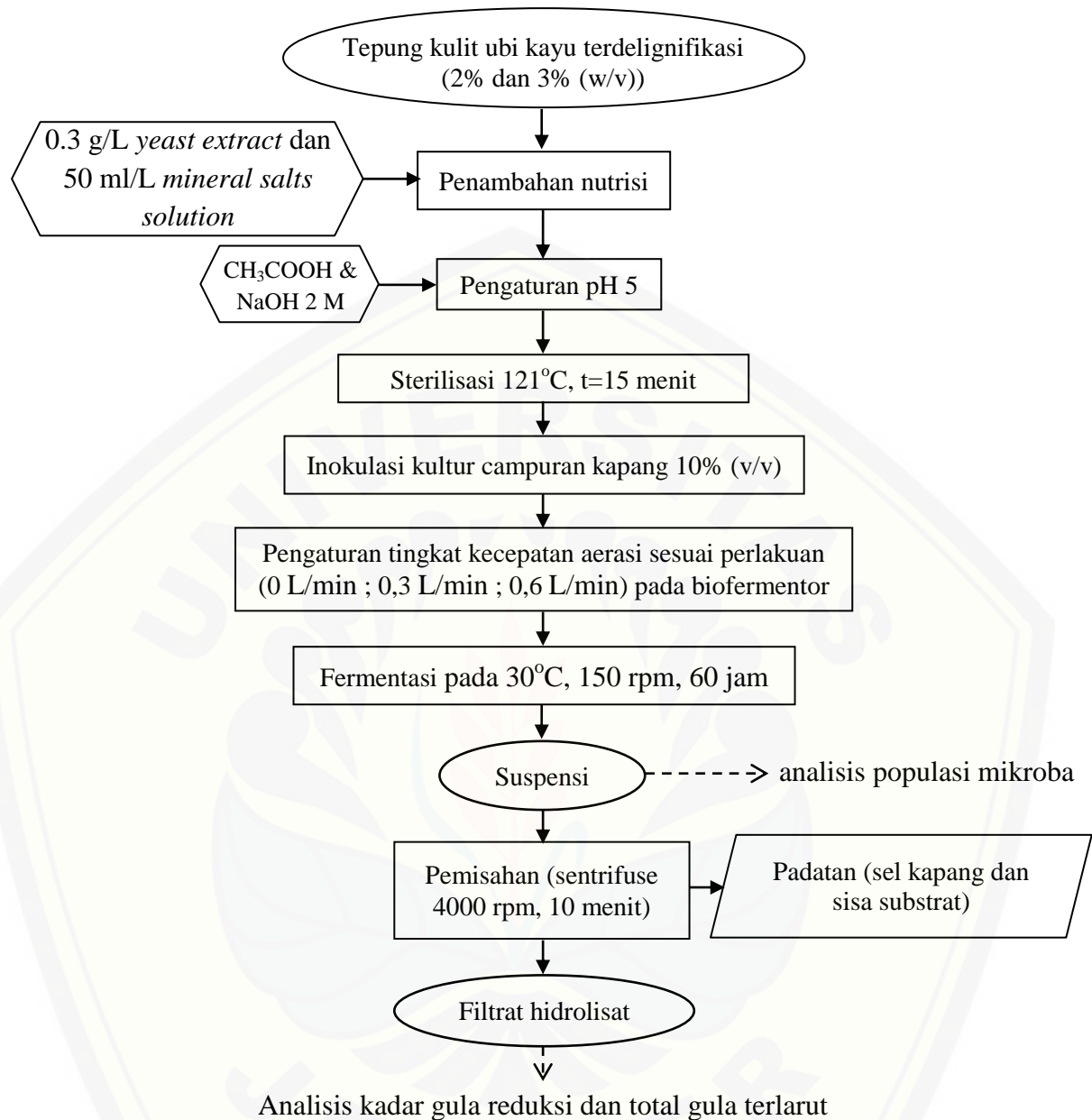
Delignifikasi dilakukan secara kimia dengan menggunakan larutan NaOCl berdasarkan metode Assadam (2014) dengan merendam 1000 g tepung kulit ubi kayu dalam 10 L larutan NaOCl 1% selama 5 jam pada suhu 28°C. Setelah itu dilakukan pengendapan untuk diambil padatnya. Endapan yang terbentuk dicuci menggunakan aquades hingga netral (pH 7). Diagram alir proses delignifikasi dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Diagram alir proses delignifikasi tepung kulit ubi kayu

b. Proses Hidrolisis

Kulit ubi kayu terdelignifikasi sesuai dengan perlakuan 2% dan 3% (w/v) ditambah nutrisi untuk mengkonidisikan mikroorganisme tumbuh optimal yaitu berupa 0.3 g/L *yeast extract* dan 50 ml/L *mineral salts solution*, dan dilakukan pengaturan pH 5, kemudian disterilisasi pada 121°C selama 15 menit. Setelah itu media didinginkan dan diinokulasi dengan kapang *A. niger*, *T. viride* dan *Acremonium sp.* IMI 383068 sebanyak 10% (v/v). Setelah itu dilakukan pengaturan tingkat pemberian aerasi (0 L/min ; 0,3 L/min ; 0,6 L/min) pada biofermentor lalu diinkubasi pada suhu 30°C dengan kecepatan pengadukan 150 rpm selama 60 jam dan dilakukan pengamatan secara periodik setiap 12 jam sekali. Pengamatan yang dilakukan meliputi populasi mikroba, kadar gula reduksi, dan kadar total gula terlarut. Adapun diagram alir proses produksi gula reduksi dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Diagram alir proses hidrolisis

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan terbagi menjadi dua, yaitu parameter pengamatan pada bahan baku dan hidrolisat kulit ubi kayu.

3.4.1 Pengamatan pada bahan baku meliputi:

1. Kadar air (Sudarmadji *et al.*, 1997)
2. Kadar pati (Sudarmadji *et al.*, 1997)

3. Kadar Lignoselulosa (Datta, 1981)

3.4.2 Pengamatan pada hidrolisat ubi kayu meliputi:

1. Perhitungan Populasi Mikroba (Ristiati, 2000)
2. Analisa Total Gula Terlarut (Dubois, 1956)
3. Analisa Gula Reduksi (Miller, 1959)
4. Perhitungan Derajat Polimerisasi (Thalagala *et al.*, 2009)
5. Perhitungan Efisiensi Hidrolisis (Thalagala *et al.*, 2009)

3.5 Posedur Analisis

3.5.1 Penentuan Kadar Air

Cawan kosong dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam eksikator kemudian ditimbang (a gram). Sampel ditimbang seberat 2 gram dalam cawan kosong (b gram). Cawan yang berisi sampel dimasukkan kedalam oven selama 4-6 jam dan dihindarkan kontak dengan dinding oven. Cawan dipindahkan kedalam eksikator dan setelah dingin (± 30 menit) ditimbang. Cawan kemudian diletakan kembali dalam oven selama 30 menit dan setelah didinginkan dalam eksikator ditimbang kembali dan pekerjaan ini dilakukan berulang kali hingga diperoleh berat konstan (c gram). Kadar air ditentukan dengan rumus :

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

Keterangan:

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

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 kadar pati dinyatakan sebagai glukosa dan filtrat yang diperoleh. Penentuan glukosa dilakukan seperti pada penentuan gula reduksi menggunakan ragensia DNS. Berat pati diperoleh dengan mengalikan berat glukosa dengan faktor pengali 0,9.

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

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 Chesson yang dikembangkan oleh Datta (1981). Adapun metodenya yaitu disiapkan dua gram sampel kering (a gram) ditambahkan 150 ml H₂O. Direfluk dengan water bath pada suhu 100°C selama 2 jam. Hasilnya disaring, residu dikeringkan dengan oven sampai konstan kemudian ditimbang (b gram). 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 gram). 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 gram), selanjutnya residu yang telah kering diabu dan ditimbang (e gram).

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

$$\begin{aligned}\text{Selulosa (\%)} &= \frac{c-d}{a} \times 100\% \\ \text{Lignin (\%)} &= \frac{d-e}{a} \times 100\%\end{aligned}$$

Keterangan:

- a : berat awal sampel biomassa lignoselulosa
- b : residu sampel direfluk dengan H₂O
- c : residu sampel setelah direfluk dengan 0,5 M H₂SO₄
- d : residu sampel setelah direndam dengan 72% H₂SO₄ dan kemudian diencerkan menjadi 0,5 M
- e : abu dari residu sampel.

3.5.4 Populasi Mikroba Menggunakan Metode Lempeng Agar.

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. 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung pertama, hingga konsentrasi larutan di dalam tabung pertama menjadi 10⁻¹.
2. 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 larutan dan dipindah ke dalam cawan petri dan ditambahkan media padat MEA (Agar sebar). Pertumbuhan koloni yang kemudian timbul pada setiap cawan dihitung menggunakan alat penghitung koloni (*colony counter*).

3.5.5 Penentuan Kadar Gula Reduksi 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 gelap.

b. Pembuatan kurva standar

Kurva standar diperoleh dengan cara membuat seri konsentrasi glukosa. Kemudian 1 ml larutan standart 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 ditambahkan dengan 8 ml aquades dan 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

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di tambahkan 1 ml larutan DNS dan divortex. Setelah itularutan dipanaskan pada suhu 100 °C selama 15 menit dan didinginkan sekitar 5 menit. Setelah dingin larutan ditambah 8 ml aquades dan divortex. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.

3.5.6 Penentuan Kadar Total Gula Terlarut

Penentuan kadar total gula mengacu pada metode yang dikembangkan oleh (Dubois, 1956), adapun penentuan kadar total gula diawali dengan pembuatan kurva standar total gula 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 sampel sama dengan pembuatan kurva standar total gula,

tetapi 1 ml larutan gula standar diganti dengan 1 ml sampel. Kadar total gula sampel diperoleh dari persamaan kurva standar dengan sumbu y sebagai absorbansi dan sumbu x sebagai total gula (mg/ml).

3.5.7 Penentuan Derajat Polimerisasi

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

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

3.5.8 Efisiensi Hidrolisis

Efisiensi hidrolisis diperoleh dengan cara membagi nilai total gula/gula pereduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis dengan nilai selulosa dan hemiselulosa dari bahan baku yang digunakan. Penentuan nilai efisiensi hidrolisis menggunakan metode yang dikembangkan oleh Thalagala *et al.* (2009). Nilai efisiensi hidrolisis ini berguna untuk mengetahui berapa banyak bahan yang bisa digunakan dalam suatu proses hidrolisis. Apabila nilai efisiensi suatu produk semakin tinggi, maka akan lebih banyak produk yang bisa digunakan. Efisiensi hidrolisis dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

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

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

3.6 Analisis Data

Data hasil penelitian diolah dengan sederhana seperti rerata dan standart deviasi. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk ilustrasi tabel dan grafik untuk mempermudah interpretasi data.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian hidrolisis tepung kulit ubi kayu sebagai substrat untuk produksi gula reduksi menggunakan kultur campuran kapang *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp.* IMI 383068 dengan perbedaan konsentrasi substrat dan perbedaan tingkat kecepatan aerasi dapat disimpulkan bahwa perlakuan konsentrasi substrat 2% dengan tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/min menjadi perlakuan optimal dengan menghasilkan efisiensi hidrolisis tertinggi yaitu sebesar 52,29%.

5.2 Saran

Perlu adanya pengkajian lebih jauh mengenai pengaruh pH, suhu dan agitasi proses hidrolisis untuk menghasilkan proses hidrolisis yang efisien.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnata, I. W. 2009. Pengembangan Alternatif Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichordema viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*". Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Artiyani, A. dan E. S. Soedjono. 2011. Bioetanol Dari Limbah Kulit Singkong Melalui Proses Hidrolisis Dan Fermentasi Dengan *Saccharomyces cerevisiae*. "Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi XIII" Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Assadam, A. 2014. Delignifikasi Secara Kimia Kopi Robusta Hasil Samping Pengolahan Kopi Metode Kering Sebagai Substrat Bioetanol. *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
- Astutik, R. P., N. D. Kuswyasari, dan M. Shovitri. 2007. Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xylanase Isolate Kapang Tanah Wonorejo, Surabaya. *Paper*. Surabaya: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITS.
- Badan Pusat Statistik. 2015. *Produksi Ubi Kayu Sektor Pertanian di Indonesia Tahun 2015*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Brown, R. D. 1979. *Hydrolisis of cellulose: Mechanism of enzymatic and acid catalysis advance in chemistry series 18*. Washington: American Chemical Society.
- Chahal, P. S., dan D. S. Chahal. 1998. Lignocellulosic waste: Biological conversion. In: Martin, A. M. [eds]. *Bioconversion of waste materials to industrial product*. Ed ke-2. London: Blackie Academic & Profesional. Pp. 376-442.
- Charles, A. L., T. C. Huang, dan Y. H. Chang. 2008. Structural analysis and characterization of a mucopolysaccharide isolated from roots of cassava (*Manihot esculenta* (L.) Crantz.). *Food Hydrocolloids*, Vol. 22, No. 1, pp. 184-191.
- Crueger, W., dan A. Crueger. 1982. *Biotechnology*. Madison: Science Tech, Inc.
- Darkono, D., T. Herawan, dan P. Guritno. 2001. Teknologi Produksi Biodiesel dan Prospek Pengembangannya di Indonesia. *Warta PPKS* 9(1): 17-27.
- Datta, R. 1981. Acidogenic fermentation of lignocellulose acid yield and conversion of components. *Biotechno. Dione* 23. Hlm 2167-2170.

- Deobald, M. P. dan D. Crawford. 2002. *Lignocellulose biodegradation*. Di dalam: Hurst, Crawford, Kudsan, McInerney, dan Stetzenbach. (Ed). *Manual of environmental microbiology*. Ed ke-2. Washington: ASM Press
- Douglas, F., A. Boussaid, J. Robinson, Y. J. Cai, D. J. Gregg, dan J. N. Saddler. 1987. Fermentability of the hemicellulose-exploded softwood. *Journal of Biotechnology and Bioengineering* 64 (3): 285:289.
- Dubios, Giles, Hamilton, rebers, dan Smith. 1956. Colometric method for determination of sugar and related substances. *Journal Chemical*. 28 (3): 350-356.
- Faiqoh, H. 2017. Efisiensi Hidrolisis Tepung Kulit Ubi Kayu Menggunakan *T. viride* dan *A. niger*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Fengel, D. dan G. Wegener. 1995. Kimia Kayu, Reaksi Ultrastruktur: Terjemahan Hardjono, S. Yogyakarta: UGM: Press.
- Foody, B. J., S. Tohan, dan J. D. Bernstein. 1999. Pretreatment Process for conversion of cellulose to fuel ethanol. U.S. pat. No.6.090.595.
- Fowler, M. W. 1988. "Enzyme Technology" in Biotechnology For Engineers, Biological System in Technological Processes, Edited: Scragg, A. H., John Wiley & Sons, New York.
- Fox, P. F. 1991. Food enzymology vol 2. London: Elsevier Applied Science.
- Fridia, T. 1989. Pengaruh Cara Delignifikasi Terhadap Sakarifikasi Limbah Lignoselulolitik. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB
- Grace, M. R. 1977. *Cassava Processing: Food and Agriculture Organization*. Roma: Henniiee.
- Gunam, I. B. W. dan N. S. Antara. 1999. Study on sodium hydroxide treatment of corn stalk to increase its cellulose saccharification enzymatically by using culture filtrate of *Trichoderma reesei*. Gitayana, *Agri. Technol. J.* 5(1): 34-38.
- Gunam, I. B. W., K. Buda, dan I. M.Y. S. Guna. 2010. Effect of delignification with NaOH solution and rice straw substrate concentration on production of cellulase enzyme from *Aspergillus niger* NRRL A-II, 264. *Jurnal Biologi XIV* (1) : 55-61.

- 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. *Biomass and Bioenergy* 28:384-410.
- Hsu, T.C., G. L. Guo., W. H. Chen, dan W. S. Hwang. 2010. Effect of dilute acid pretreatment of rice straw on structural properties and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 101: 4907-4913.
- Ibrahim, M. 1998. Clean fractionation of biomass – steam explosion and extraction. Faculty of The Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Ingram, Gomez, Lai, Moniuruzzaman, Wood, Yamano, dan York. 1999. Metabolic engineering of bacteria for ethanol production. *Journal of Biotechnol and Bioeng* 58 (2): 2004-2014.
- Jacobs, H. dan J. A. Delcour. 1998. Hydrothermal modifications of granular starch with retention of the granular structure: a review. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 46(8): 2895-2905.
- Jayus. 2003. Properties of the β -glucanases from *Acremonium sp.* IMI 383086 and factors affecting their production. *Tesis*. Australia: La Trobe University Bendigo Australia.
- Judoamidjojo, M. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Bogor: IPB-Press.
- Kodri, B. D. Agro, dan R. Yulianingsih. 2013. Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatis Jerami Padi dengan *Pretreatment* Microwave. *Biopres Komoditas Tropis*, 1(1).
- Kubata, Suzuki, Horitsu, Kawal, dan Takamizawa. 1994. Purification and characterization of *Aeromonas caviae* ME-1 xylanases V, which produces exclusively xylobiose from xylan. *Appl Environ Microbiol* 60 (2): 531-535.
- Kumar, P., D. M. Barrett, M. J. Delwiche, dan P. Stroeve. 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 48 (8) 3713-3729.
- Larsson, S., A. Reimann, N. O. Nilvebrant, dan L. J. Jonsson. 1999. Comparison of Different Methods for the Detoxification of Lignocellulose Hydrolyzates of Spruce. *Appl Biochemistry Biotechnology* :77-103.

- Lynd L. R., P. J. Weiner, W. H. van Zyl, dan I. S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose Utilization: *Fundamentals and Biotechnology*. Microbiol 66(3): 506-577.
- Maarel, V. D. 2002. Properties and application of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*. 94: 137-155.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analysis Chemical*. (31): 426-428.
- Muhiddin, N., N. Juli, dan I. N. P. Aryantha. 2000. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Matematika dan Sains*. 6 (1) : 10-12.
- Muthuvelayudham, R. dan T. Viruthagiri. 2007. Optimizaton and modeling of cellulase protein from *Trichoderma reseei* Rut C30 using mixed substrate. *African Journal of Biotechnology*. 6 (1), 41-46.
- Palonen, H. 2004. Role of lignin in the enzymatic hydrolysis lignocellulose VVT biotechnology. Finland: Helsinki University of Technology.
- Perez, J., D. J. Munoz., D. L. T. Rubia, dan J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: An overview. *J International Microbiology* 5(2): 53-63.
- Prihandana, R., K. Noerwijati., P. G. Adinurani., D. Setyaningsih., S. Setiadi., R. Hendroko. 2008. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Prior B. A., J. C. Du Preez, dan P. W. Rein. 1992. Environmental Parameters in Doelle, H. W Mitchell and Rolz, C (eds) *Solid State Cultivation*, London, Elsvier, p.65-85.
- Rukmana, R. 1997. *Ubi Kayu Budi daya dan Paska Panen*. Yogyakarta: Kasinius.
- Ruriani, E., A. Meryandini, dan T. C. Sunarti. 2012. Enzymatic hydrolysis of delignified corncob using combined enzyme. *International Journal of Food Natrition and Public Health*. 5: 107-127.
- Safari, S., N. Idiawati, dan T. A. Zaharah. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Tricoderma reseei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, 2 (1), 46-51.
- Sanchez, O.O., dan C. A. Candona. 2007. Review: Trends of Biotechnological Production of Fuel Ethanol from Different Feedstock. *Bioresource Technology*: Artikel in Press.

- Sediaotama, dan A. Djaeni. 1987. *Ilmu Gizi Jilid I*. Jakarta: Dian Rakyat.
- 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.
- Separianti, E., T. Dewanti, dan S. K. Dhoni. 2010. Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Glukosa Cair Oleh Kapang *Trichoderma viride*. Universitas Brawijaya. Vol 5. No.1 : 1-10.
- Sriroth, K., S. Wanlapatit, dan K. Piyachomkwan. 2012. *Bioethanol : Cassava Bioethanol*. Thailand : University Campus STeP Ri.
- Strenberg, D. 1976. Production of cellulose by *Trichoderma viride*. In enzymatic conversion of cellulosic materials : technology and Applications. Inc. New York.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suhartono, M. T. 1989. Enzim dan Bioteknologi. Bogor: IPB Press.
- Sun, Y. 2002. Enzymatic hydrolysis of rye straw and bermudagrass for ethanol production. *Disertasi*. USA: North Carolina State University.
- Sun, Y. dan J. Cheng. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: A Review. *Biores Technol* 83:1-11.
- Taherzadeh, M. J. dan K. Karimi. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes For Ethanol From Lignocellulosic Materials. A Riview. Isfahan University of Technology: Departemennt of chemical engineering.
- Thalagala, Kodama, Mishima, Isono, Furujo, Kawasaki, dan Hisamatsu. 2009. Study on a new preparation od D-Glucose rich fractions from various lignocelluloses through a two-step extraction with sulphuric acid. *J Appl Glycosci* 56: 1-6.
- Ujiie, M., C. Roy, dan M. Yaguchi. 1991. Low-molecular-weight xylanase from *Trichoderma viride*. *Applied and Environmental Mycrobology* 57 (6): 1860-1862.
- Villena, K. Gretty, dan P.W. Correa. 2007. Production of lignocellulolytic enzyme by *Aspergillus niger* biofilms at variable water activities. *Electronic Journal of Biotechnology Chile* Vol. 10 No.1., pp 124-140.

Wisda, H., W. B. Sediawan, dan Sarto. 2016. Pengaruh Aerasi Pada Fermentasi Padat Tandan Kosong Kelapa Sawit Oleh *Aspergillus niger* Terhadap Produksi Gula Sederhana. *Thesis*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada.

Zamora, A. 2005. Carbohidrat - Chemical Structure.
<http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates>.
[Diakses pada 25 Desember 2016]

Zhang, Qi, Liu, Su, Wu, dan He. 2010. Fractionating lignocellulose by formic acid: Characterization of major components. *Biomass and Bioenergy* 34:525-532



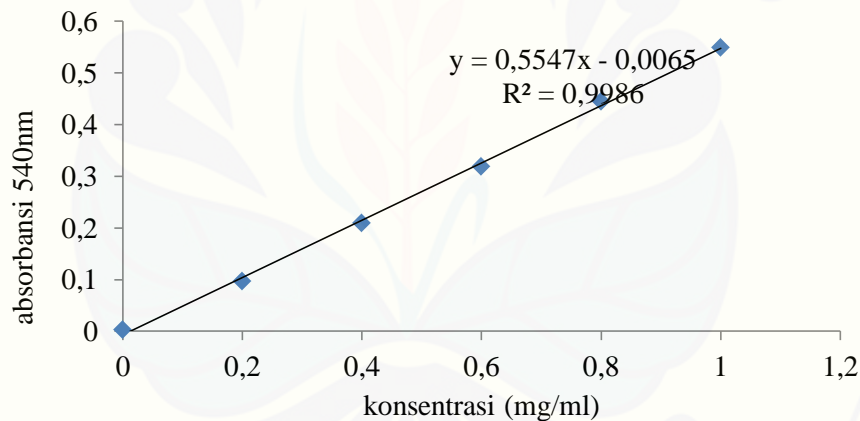
LAMPIRAN

LAMPIRAN A. GULA REDUKSI DAN POPULASI MIKROBA HASIL PENELITIAN PENDAHULUAN

A.1 PENENTUAN GULA REDUKSI

volume pengambilan glukosa standart (ml) (0,01%)	H ₂ O	konsentrasi glukosa (mg/ml)	absorbansi
0	1	0	0,004
0,2	0,8	0,2	0,097
0,4	0,6	0,4	0,21
0,6	0,4	0,6	0,319
0,8	0,2	0,8	0,445
1	0	1	0,55

Kurva standar gula pereduksi

A.1.1 Kadar gula reduksi hasil hidrolisis *Aspergillus niger*

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			Kadar gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,001	0,008	0,005	0,14	0,26	0,21	0,20	0,06
12	0,003	0,020	0,016	0,18	0,47	0,41	0,35	0,16
24	0,051	0,066	0,055	1,04	1,30	1,11	1,15	0,13
36	0,252	0,262	0,257	4,66	4,84	4,74	4,75	0,09
48	0,255	0,272	0,262	4,72	5,03	4,85	4,86	0,15
60	0,218	0,232	0,223	4,05	4,30	4,13	4,16	0,13
72	0,073	0,114	0,082	1,43	2,17	1,60	1,74	0,39

A.1.2 Kadar gula reduksi hasil hidrolisis *Trichoderma viride*

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			Kadar gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,004	0,008	0,008	0,19	0,27	0,27	0,24	0,05
12	0,018	0,021	0,023	0,45	0,50	0,54	0,49	0,05
24	0,055	0,055	0,059	1,10	1,10	1,19	1,13	0,05
36	0,198	0,203	0,211	3,69	3,77	3,93	3,80	0,12
48	0,213	0,216	0,221	3,96	4,02	4,10	4,02	0,07
60	0,168	0,180	0,191	3,15	3,36	3,55	3,35	0,20
72	0,148	0,151	0,148	2,79	2,85	2,79	2,81	0,03

A.1.3 Kadar gula reduksi hasil hidrolisis *Acremonium sp.* IMI 383069

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			Kadar gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,007	0,010	0,008	0,25	0,30	0,26	0,27	0,03
12	0,025	0,033	0,031	0,57	0,71	0,68	0,65	0,07
24	0,047	0,053	0,050	0,96	1,07	1,02	1,02	0,05
36	0,056	0,065	0,063	1,13	1,28	1,25	1,22	0,08
48	0,085	0,091	0,084	1,64	1,76	1,64	1,68	0,07
60	0,071	0,075	0,067	1,40	1,48	1,32	1,40	0,08
72	0,064	0,065	0,055	1,28	1,29	1,10	1,22	0,11

A.1.4 Kadar gula reduksi hasil hidrolisis kultur campuran *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			Kadar gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,008	0,011	0,008	0,26	0,31	0,26	0,27	0,03
12	0,068	0,062	0,081	1,35	1,24	1,58	1,39	0,18
24	0,193	0,189	0,211	3,59	3,52	3,92	3,68	0,21
36	0,333	0,324	0,320	6,13	5,96	5,88	5,99	0,13
48	0,343	0,335	0,347	6,31	6,16	6,37	6,28	0,11
60	0,239	0,226	0,249	4,43	4,19	4,61	4,41	0,21
72	0,138	0,141	0,166	2,61	2,67	3,11	2,80	0,27

A.1.5 Kadar gula reduksi hasil hidrolisis kultur campuran *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp.* IMI 383068

waktu hidrolisis (jam)	absorbansi			Kadar gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,015	0,007	0,011	0,39	0,25	0,31	0,32	0,07
12	0,071	0,069	0,058	1,40	1,36	1,16	1,31	0,13
24	0,264	0,240	0,251	4,88	4,44	4,64	4,65	0,22
36	0,335	0,343	0,326	6,16	6,29	5,99	6,15	0,15
48	0,394	0,405	0,383	7,23	7,42	7,03	7,23	0,20
60	0,307	0,327	0,313	5,65	6,01	5,75	5,80	0,18
72	0,192	0,205	0,236	3,57	3,82	4,37	3,92	0,41

A.2 POPULASI MIKROBA

A.2.1 Populasi mikroba hidrolisis *Aspergillus niger*

Waktu hidrolisis (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Rerata	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	1	2	1	1 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	0,6
12	2	5	2	2 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	1,7
24	5	6	2	5 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	2,1
36	6	8	4	6 x 10 ⁶	8 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	2,0
48	8	11	7	8 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶	7 x 10 ⁶	9 x 10 ⁶	2,1
60	4	10	5	4 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	3,2
72	3	5	3	3 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	1,2

A.2.2 Populasi mikroba hidrolisis *Trichoderma viride*

Waktu hidrolisis (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Rerata	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	0	2	1	0 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1,0
12	4	2	4	4 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	1,2
24	5	5	9	5 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	9 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	2,3
36	7	8	12	7 x 10 ⁶	8 x 10 ⁶	12 x 10 ⁶	9 x 10 ⁶	2,6
48	9	7	13	9 x 10 ⁶	7 x 10 ⁶	13 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	3,1
60	5	4	11	5 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶	7 x 10 ⁶	3,8
72	2	3	8	2 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	8 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	3,2

A.2.3 Populasi mikroba hidrolisis *Acremonium sp.* IMI 383068

Waktu hidrolisis (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Rerata	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	0	1	1	0 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	0,6
12	1	2	2	1 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	0,6
24	1	3	2	1 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	1,0
36	2	2	2	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	0,0
48	3	5	4	3 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	1,0
60	1	3	2	1 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	1,0
72	2	1	1	2 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	0,6

A.2.4 Populasi mikroba hidrolisis kultur campuran *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride*

Waktu hidrolisis (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Rerata	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	2	1	2	2×10^6	1×10^6	2×10^6	2×10^6	0,6
12	5	4	1	5×10^6	4×10^6	1×10^6	3×10^6	2,1
24	6	3	8	6×10^6	3×10^6	8×10^6	6×10^6	2,5
36	8	7	11	8×10^6	7×10^6	11×10^6	9×10^6	2,1
48	13	10	17	13×10^6	10×10^6	17×10^6	13×10^6	3,5
60	9	6	12	9×10^6	6×10^6	12×10^6	9×10^6	3,0
72	5	5	9	5×10^6	5×10^6	9×10^6	6×10^6	2,3

A.2.4 Populasi mikroba hidrolisis kultur campuran *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, dan *Acremonium sp.* IMI 383068

Waktu hidrolisis (jam)	Populasi kapang			Cfu/ml			Rerata	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	2	0	1	2×10^6	0×10^6	1×10^6	2×10^6	1,0
12	3	2	2	3×10^6	2×10^6	2×10^6	4×10^6	0,6
24	7	4	3	7×10^6	4×10^6	3×10^6	7×10^6	2,1
36	12	7	9	12×10^6	7×10^6	9×10^6	14×10^6	2,5
48	22	14	18	22×10^6	14×10^6	18×10^6	16×10^6	4,0
60	19	9	11	19×10^6	9×10^6	11×10^6	11×10^6	5,3
72	13	5	6	13×10^6	5×10^6	6×10^6	8×10^6	4,4

LAMPIRAN B. KARAKTERISTIK TEPUNG KULIT UBI KAYU

B.1 Kulit Ubi Kayu Tanpa Delignifikasi

Komponen	Ulangan				Rerata (%)	STDEV
	1	2	3	4		
Kadar air	11,92	12,03	12,27	12,14	12,09	0,15
Kadar pati	21,99	20,28	20,98	20,40	20,92	0,57
Kadar lignin	8,24	8,42	8,62	8,59	8,47	0,15
Kadar selulosa	31,56	32,14	31,99	32,92	32,15	0,57
Kadar hemiselulosa	18,05	19,95	18,65	19,96	19,15	0,83

B.2 Kulit Ubi Kayu Tanpa Delignifikasi

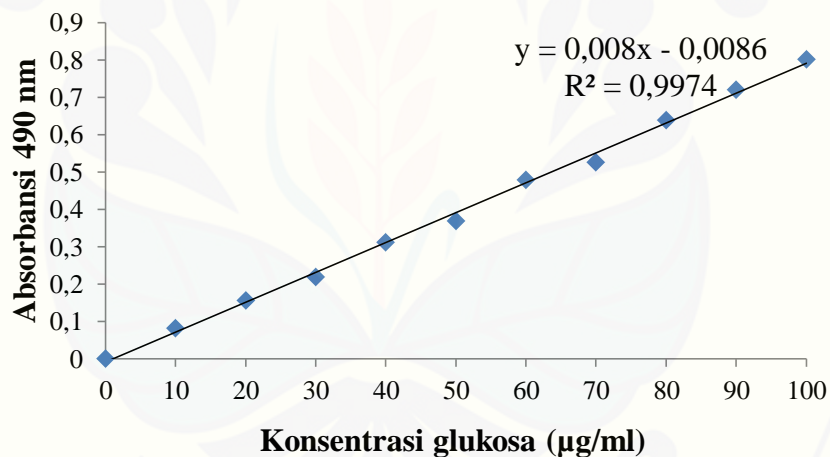
Komponen	Ulangan				Rerata (%)	STDEV
	1	2	3	4		
Kadar air	10,79	11,06	10,74	10,92	10,88	0,14
Kadar pati	11,63	11,47	10,75	12,36	11,55	0,66
Kadar lignin	2,99	3,07	3,19	2,91	3,04	0,12
Kadar selulosa	50,31	51,20	51,46	51,78	51,19	0,63
Kadar hemiselulosa	16,61	16,38	16,96	17,76	16,93	0,60

LAMPIRAN C. PENENTUAN KADAR TOTAL GULA TERLARUT

larutan glukosa standar = 0,01% = 0,01 g/100ml = 10 mg/100ml = 100 μ g/100ml

volume pengambilan glukosa standar (ml)	H ₂ O (ml)	konsentrasi glukosa (μ g/ml)	Absorbansi
0	1	0	0
0,1	0,9	10	0,081
0,2	0,8	20	0,156
0,3	0,7	30	0,219
0,4	0,6	40	0,311
0,5	0,5	50	0,369
0,6	0,4	60	0,479
0,7	0,3	70	0,525
0,8	0,2	80	0,638
0,9	0,1	90	0,72
1	0	100	0,801

kurva standar total gula terlarut

**C.1 Kadar total gula terlarut substrat 2% pada tingkat kecepatan aerasi 0 L/min (tanpa aerasi) (FP = 150)**

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			total gula terlarut (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,043	0,064	0,050	0,97	1,36	1,10	1,14	0,20
12	0,242	0,270	0,261	4,70	5,22	5,06	4,99	0,27
24	0,298	0,325	0,311	5,75	6,26	5,99	6,00	0,25
36	0,407	0,425	0,416	7,79	8,13	7,96	7,96	0,17
48	0,430	0,478	0,453	8,22	9,12	8,66	8,67	0,45
60	0,401	0,448	0,412	7,68	8,56	7,89	8,04	0,46

C.2 Kadar total gula terlarut substrat 2% pada tingkat kecepatan aerasi 0,3 L/min (FP = 150)

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			total gula terlarut (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,056	0,060	0,059	1,21	1,29	1,27	1,26	0,04
12	0,267	0,299	0,280	5,17	5,77	5,41	5,45	0,30
24	0,321	0,364	0,331	6,18	6,99	6,37	6,51	0,42
36	0,429	0,432	0,456	8,21	8,26	8,71	8,39	0,28
48	0,478	0,486	0,441	9,12	9,27	8,43	8,94	0,45
60	0,440	0,417	0,409	8,41	7,98	7,83	8,07	0,30

C.3 Kadar total gula terlarut substrat 2% pada tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/min (FP = 150)

waktu hidrolisis (jam)	absorbansi			total gula terlarut (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,077	0,068	0,050	1,61	1,44	1,10	1,38	0,26
12	0,241	0,247	0,279	4,68	4,79	5,39	4,96	0,38
24	0,280	0,339	0,342	5,41	6,52	6,57	6,17	0,66
36	0,463	0,427	0,458	8,84	8,17	8,75	8,59	0,37
48	0,508	0,461	0,491	9,69	8,81	9,37	9,29	0,45
60	0,483	0,417	0,439	9,22	7,98	8,39	8,53	0,63

C.4 Kadar total gula terlarut substrat 3% pada tingkat kecepatan aerasi 0 L/min (tanpa aerasi) (FP = 150)

waktu hidrolisis (jam)	absorbansi			total gula terlarut (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,049	0,063	0,057	1,08	1,34	1,23	1,22	0,13
12	0,217	0,235	0,195	4,23	4,57	3,82	4,21	0,38
24	0,372	0,407	0,345	7,14	7,79	6,63	7,19	0,58
36	0,470	0,508	0,458	8,97	9,69	8,75	9,14	0,49
48	0,505	0,569	0,573	9,63	10,83	10,91	10,46	0,72
60	0,460	0,474	0,426	8,79	9,05	8,15	8,66	0,46

C.5 Kadar total gula terlarut substrat 3% pada tingkat kecepatan aerasi 0,3 L/min (FP = 150)

waktu hidrolisis (jam)	absorbansi			total gula terlarut (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,065	0,069	0,078	1,38	1,46	1,62	1,49	0,12
12	0,205	0,211	0,236	4,01	4,12	4,59	4,24	0,31
24	0,305	0,276	0,32	5,88	5,34	6,16	5,79	0,42
36	0,466	0,456	0,517	8,90	8,71	9,86	9,16	0,61
48	0,605	0,613	0,655	11,51	11,66	12,44	11,87	0,50
60	0,452	0,469	0,496	8,64	8,96	9,46	9,02	0,42

C.6 Kadar total gula terlarut substrat 3% pada tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/min (FP = 150)

waktu hidrolisis (jam)	absorbansi			total gula terlarut (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,073	0,056	0,086	1,53	1,21	1,77	1,51	0,28
12	0,437	0,398	0,463	8,36	7,62	8,84	8,27	0,61
24	0,486	0,505	0,557	9,27	9,63	10,61	9,84	0,69
36	0,559	0,553	0,587	10,64	10,53	11,17	10,78	0,34
48	0,709	0,663	0,722	13,46	12,59	13,70	13,25	0,58
60	0,592	0,594	0,603	11,26	11,30	11,47	11,34	0,11

Contoh perhitungan total gula terlarut:

0,1 ml sampel diencerkan dengan aquades 14,9 ml hingga diperoleh faktor pengenceran 150. Kemudian dipipet sebanyak 1 ml untuk dilakukan pengukuran kadar total gula terlarut.

Nilai absorbansi total gula terlarut pada waktu hidrolisis 48 jam dengan perlakuan substrat 3% aerasi 0,6 L/min ulangan 1 = 0,709

Kadar total gula terlarut = x ; dimana $x = \frac{y+0,0086}{0,008}$

Absorbansi = y

$$x = \frac{0,709+0,0086}{0,008}$$

$$= 89,7 \mu\text{g/ml}$$

Faktor Pengenceran (FP) = 150

Sehingga kadar total gula terlarut (g/L supernatan) = 89,7 $\mu\text{g/ml}$ x FP

$$= 89,7 \mu\text{g/ml} \times 150$$

$$= 13.455 \mu\text{g/ml}$$

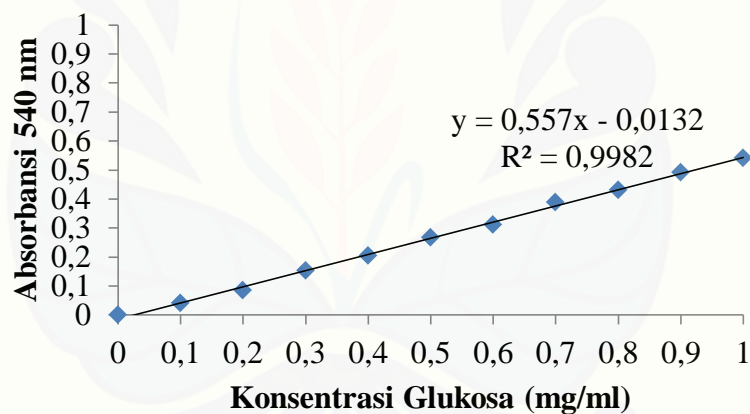
$$= 13,455 \text{ g/L}$$

LAMPIRAN D. PENENTUAN KADAR GULA REDUKSI

Larutan glukosa standar = 0,1% = 0,1 g/100ml = 1 mg/100ml

volume pengambilan glukosa standar (ml)	H ₂ O (ml)	konsentrasi glukosa (mg/ml)	Absorbansi
0	1	0	0
0,1	0,9	0,1	0,042
0,2	0,8	0,2	0,086
0,3	0,7	0,3	0,153
0,4	0,6	0,4	0,204
0,5	0,5	0,5	0,267
0,6	0,4	0,6	0,311
0,7	0,3	0,7	0,389
0,8	0,2	0,8	0,432
0,9	0,1	0,9	0,492
1	0	1	0,542

kurva standar gula reduksi



D.1 Kadar gula reduksi substrat 2% pada tingkat kecepatan aerasi 0 L/min (tanpa aerasi) (FP = 10)

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,015	0,019	0,01	0,51	0,58	0,42	0,50	0,08
12	0,07	0,062	0,051	1,49	1,35	1,15	1,33	0,17
24	0,123	0,112	0,082	2,45	2,25	1,71	2,13	0,38
36	0,283	0,263	0,219	5,32	4,96	4,17	4,82	0,59
48	0,43	0,426	0,407	7,96	7,89	7,54	7,80	0,22
60	0,309	0,326	0,316	5,78	6,09	5,91	5,93	0,15

**D.2 Kadar gula reduksi substrat 2% pada tingkat kecepatan aerasi 0,3 L/min
(FP = 10)**

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,005	0,015	0,009	0,33	0,51	0,40	0,41	0,09
12	0,055	0,066	0,06	1,22	1,42	1,31	1,32	0,10
24	0,17	0,183	0,141	3,29	3,52	2,77	3,19	0,39
36	0,309	0,336	0,316	5,78	6,27	5,91	5,99	0,25
48	0,434	0,438	0,427	8,03	8,10	7,90	8,01	0,10
60	0,331	0,349	0,381	6,18	6,50	7,08	6,59	0,45

**D.3 Kadar gula reduksi substrat 2% pada tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/min
(FP = 10)**

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,02	0,01	0,021	0,60	0,42	0,61	0,54	0,11
12	0,082	0,101	0,115	1,71	2,05	2,30	2,02	0,30
24	0,273	0,299	0,31	5,14	5,61	5,80	5,52	0,34
36	0,323	0,354	0,371	6,04	6,59	6,90	6,51	0,44
48	0,44	0,451	0,462	8,14	8,33	8,53	8,33	0,20
60	0,397	0,352	0,404	7,36	6,56	7,49	7,14	0,51

**D.4 Kadar gula reduksi substrat 3% pada tingkat aerasi 0 L/min (tanpa aerasi)
(FP = 10)**

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,03	0,015	0,011	0,78	0,51	0,43	0,57	0,18
12	0,064	0,045	0,082	1,39	1,04	1,71	1,38	0,33
24	0,168	0,143	0,174	3,25	2,80	3,36	3,14	0,30
36	0,385	0,357	0,321	7,15	6,65	6,00	6,60	0,58
48	0,519	0,506	0,478	9,55	9,32	8,82	9,23	0,38
60	0,401	0,473	0,394	7,44	8,73	7,31	7,83	0,79

**D.5 Kadar gula reduksi substrat 3% pada tingkat kecepatan aerasi 0,3 L/min
(FP = 20)**

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,002	0,007	0,009	0,55	0,73	0,80	0,69	0,13
12	0,027	0,035	0,044	1,44	1,73	2,05	1,74	0,31
24	0,102	0,107	0,122	4,14	4,32	4,85	4,44	0,37
36	0,198	0,205	0,227	7,58	7,83	8,62	8,01	0,54
48	0,273	0,284	0,298	10,28	10,67	11,17	10,71	0,45
60	0,201	0,216	0,21	7,69	8,23	8,01	7,98	0,27

**D.6 Kadar gula reduksi substrat 3% pada tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/min
(FP = 20)**

waktu hidrolisis (jam)	Absorbansi			gula reduksi (g/L)			rata-rata	Stdev
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
0	0,009	0,003	0,005	0,80	0,58	0,65	0,68	0,11
12	0,126	0,092	0,094	5,00	3,78	3,85	4,21	0,69
24	0,215	0,192	0,187	8,19	7,37	7,19	7,58	0,54
36	0,258	0,229	0,236	9,74	8,70	8,95	9,13	0,54
48	0,327	0,298	0,309	12,22	11,17	11,57	11,65	0,53
60	0,276	0,26	0,247	10,38	9,81	9,34	9,85	0,52

Contoh perhitungan gula reduksi:

0,1 ml sampel diencerkan dengan aquades 1,9 ml hingga diperoleh faktor pengenceran 20. Kemudian dipipet 1 ml untuk dilakukan pengukuran kadar gula reduksi.

Nilai absorbansi total gula terlarut pada waktu hidrolisis 48 jam dengan perlakuan substrat 3% aerasi 0,6 L/min ulangan 1 = 0,327

Kadar total gula terlarut = x ; dimana $x = \frac{y+0,0132}{0,557}$

Absorbansi = y

$$x = \frac{0,327+0,0132}{0,557}$$

$$= 0,611 \text{ mg/ml}$$

Faktor Pengenceran (FP) = 20

Sehingga kadar total gula terlarut (g/L) = 0,611 mg/ml x FP

$$= 0,611 \text{ mg/ml} \times 20$$

$$= 12,22 \text{ mg/ml}$$

$$= 12,22 \text{ g/L}$$

LAMPIRAN E. DATA POPULASI MIKROBA

E.1 Populasi mikroba substrat 2% dan tingkat kecepatan aerasi 0 L/min

lama hidrolisis (jam)	populasi kapang			Cfu/ml			Rerata (Cfu/ml)	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	1	2	2	1 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	0,25
12	4	1	3	2 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	0,31
24	7	6	5	7 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	0,18
36	15	10	6	15 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	0,18
48	20	16	12	20 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶	12 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶	0,16
60	10	19	8	10 x 10 ⁶	19 x 10 ⁶	8 x 10 ⁶	12 x 10 ⁶	0,20

E.2 Populasi mikroba substrat 2% dan tingkat kecepatan aerasi 0,3 L/min

lama hidrolisis (jam)	populasi kapang			Cfu/ml			Rerata Cfu/ml	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	2	3	1	2 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	0,33
12	8	4	6	8 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	0,29
24	24	11	17	24 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶	17 x 10 ⁶	17 x 10 ⁶	0,13
36	16	21	25	16 x 10 ⁶	21 x 10 ⁶	25 x 10 ⁶	21 x 10 ⁶	0,10
48	27	15	23	27 x 10 ⁶	15 x 10 ⁶	23 x 10 ⁶	22 x 10 ⁶	0,16
60	14	10	19	14 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	19 x 10 ⁶	14 x 10 ⁶	0,14

E.3 Populasi mikroba substrat 2% dan tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/min

lama hidrolisis (jam)	populasi kapang			Cfu/ml			Rerata Cfu/ml	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	4	2	3	4 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	3 x 10 ⁶	0,30
12	14	8	5	14 x 10 ⁶	8 x 10 ⁶	5 x 10 ⁶	9 x 10 ⁶	0,21
24	20	10	8	20 x 10 ⁶	10 x 10 ⁶	8 x 10 ⁶	13 x 10 ⁶	0,21
36	28	11	20	28 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶	20 x 10 ⁶	20 x 10 ⁶	0,16
48	31	22	27	31 x 10 ⁶	22 x 10 ⁶	27 x 10 ⁶	27 x 10 ⁶	0,16
60	17	19	11	17 x 10 ⁶	19 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶	0,13

E.4 Populasi mikroba substrat 3% dan tingkat kecepatan aerasi 0 L/min

lama hidrolisis (jam)	populasi kapang			Cfu/ml			Rerata Cfu/ml	stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	2	1	2	2 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	0,25
12	5	2	4	5 x 10 ⁶	2 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	4 x 10 ⁶	0,31
24	10	6	16	10 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶	0,17
36	13	7	14	13 x 10 ⁶	7 x 10 ⁶	14 x 10 ⁶	11 x 10 ⁶	0,19
48	21	23	19	21 x 10 ⁶	23 x 10 ⁶	19 x 10 ⁶	21 x 10 ⁶	0,16
60	15	17	8	15 x 10 ⁶	17 x 10 ⁶	8 x 10 ⁶	13 x 10 ⁶	0,18

E.5 Populasi mikroba substrat 3% dan tingkat kecepatan aerasi 0,3 L/min

lama hidrolisis (jam)	populasi kapang			Cfu/ml			Rerata Cfu/ml	Stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	3	2	3	3×10^6	2×10^6	3×10^6	3×10^6	0,10
12	10	5	9	10×10^6	5×10^6	9×10^6	8×10^6	0,16
24	13	9	10	13×10^6	9×10^6	10×10^6	11×10^6	0,08
36	22	14	20	22×10^6	14×10^6	20×10^6	19×10^6	0,10
48	29	16	25	29×10^6	16×10^6	25×10^6	23×10^6	0,13
60	15	5	8	15×10^6	5×10^6	8×10^6	9×10^6	0,24

E.6 Populasi mikroba substrat 3% dan tingkat kecepatan aerasi 0,6 L/min

lama hidrolisis (jam)	populasi kapang			Cfu/ml			Rerata Cfu/ml	Stdev
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	3	2	2	3×10^6	2×10^6	2×10^6	2×10^6	0,10
12	7	9	13	7×10^6	9×10^6	13×10^6	10×10^6	0,14
24	12	10	10	12×10^6	10×10^6	10×10^6	11×10^6	0,05
36	9	11	14	9×10^6	11×10^6	14×10^6	11×10^6	0,10
48	24	22	37	24×10^6	22×10^6	37×10^6	28×10^6	0,12
60	16	9	7	16×10^6	9×10^6	7×10^6	11×10^6	0,18

LAMPIRAN F. NILAI RERATA DERAJAT POLIMERISASI

Perlakuan	Kadar (g/L)												Derajat Polimerisasi					
	total gula terlarut pada waktu hidrolisis ke-						gula reduksi pada waktu hidrolisis ke-											
	0	12	24	36	48	60	0	12	24	36	48	60	0	12	24	36	48	60
substrat 2%; tanpa aerasi	1,14	4,99	6,00	7,96	8,67	8,04	0,50	1,33	2,13	4,82	7,80	5,93	2,28	3,75	2,82	1,65	1,11	1,36
substrat 2%; aerasi 0,3 L/min	1,26	5,45	6,51	8,39	8,94	8,07	0,41	1,32	3,19	5,99	8,01	6,59	3,07	4,13	2,04	1,40	1,12	1,22
substrat 2%; aerasi 0,6 L/min	1,38	4,96	6,17	8,59	9,29	8,53	0,54	2,02	5,52	6,51	8,33	7,14	2,56	2,46	1,12	1,32	1,12	1,19
substrat 3%; tanpa aerasi	1,29	4,21	7,19	9,14	10,46	8,66	0,57	1,38	3,14	6,60	9,23	7,83	2,26	3,05	2,29	1,38	1,13	1,11
substrat 3%; aerasi 0,3 L/min	1,49	4,24	5,79	9,16	11,87	9,02	0,69	1,74	4,44	8,01	10,71	7,98	2,16	2,44	1,30	1,14	1,11	1,13
substrat 3%; aerasi 0,6 L/min	1,51	8,27	9,84	10,78	13,25	11,34	0,68	4,21	7,53	9,13	11,65	9,85	2,22	1,96	1,31	1,18	1,14	1,15

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

Nilai derajat polimerisasi (DP) mengindikasikan panjang dari rantai suatu polimer yang diperoleh dari rasio atau perbandingan antara polimer rantai panjang dengan monomernya. Semakin rendah nilai DP, maka semakin pendek rantai penyusun gula yang artinya telah terjadi pemutusan polimer berantai panjang menjadi polimer berantai pendek akibat proses hidrolisis.

LAMPIRAN G. EFISIENSI HIDROLISIS

perlakuan	Kadar (g/L)												Selulosa + hemiselulosa + pati	Efisiensi hidrolisis (%)											
	Total gula terlarut pada waktu hidrolisis ke-						Gula reduksi pada waktu hidrolisis ke-							Total gula terlarut pada waktu hidrolisis ke-						Gula reduksi pada waktu hidrolisis ke-					
	0	12	24	36	48	60	0	12	24	36	48	60		0	12	24	36	48	60	0	12	24	36	48	60
Substrat 2% ; tanpa aerasi	1,14	4,99	6,00	7,96	8,67	8,04	0,50	1,33	2,13	4,82	7,80	5,93	15,93	7,16	31,32	37,66	49,97	54,43	50,47	3,14	8,35	13,37	30,26	48,96	37,23
Substrat 2% ; aerasi 0,3 L/min	1,26	5,45	6,51	8,39	8,94	8,07	0,41	1,32	3,19	5,99	8,01	6,59	15,93	7,91	34,21	40,87	52,67	56,12	50,66	2,57	8,29	20,03	37,60	50,28	41,37
Substrat 2% ; aerasi 0,6 L/min	1,38	4,96	6,17	8,59	9,29	8,53	0,54	2,02	5,52	6,51	8,33	7,14	15,93	8,66	31,14	38,73	53,92	58,32	53,55	3,39	12,68	34,65	40,87	52,29	44,82
Substrat 3% ; tanpa aerasi	1,29	4,21	7,19	9,14	10,46	8,66	0,57	1,38	3,14	6,60	9,23	7,83	23,90	5,40	17,62	30,08	38,24	43,77	36,23	2,38	5,77	13,14	27,62	38,62	32,76
Substrat 3% ; aerasi 0,3 L/min	1,49	4,24	5,79	9,16	11,87	9,02	0,69	1,74	4,44	8,01	10,71	7,98	23,90	6,23	17,74	24,23	38,33	49,67	37,74	2,89	7,28	18,58	33,51	44,81	33,39
Substrat 3% ; aerasi 0,6 L/min	1,51	8,27	9,84	10,78	13,25	11,34	0,68	4,21	7,53	9,13	11,65	9,85	23,90	6,32	34,60	41,17	45,10	55,44	47,45	2,85	17,62	31,51	38,20	48,74	41,21

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

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

LAMPIRAN H. DOKUMENTASI KEGIATAN

H.1 Proses Pembuatan Tepung Kulit Ubi Kayu



Pemisahan kulit terluar



Pencucian



Pengeringan (sinar matahari)



Pengecilan ukuran



Pengayakan



Tepung kulit ubi kayu

H.2 Proses Delignifikasi Tepung Kulit Ubi Kayu



Pebuatan larutan NaOCl 1%



Delignifikasi selama 5 jam



Pemisahan residu dan filtrat



Pencucian hingga netral



Pengeringan tepung kulit ubi kayu terdelignifikasi

H.3 Proses Peremajaan Kultur Kapang



Pembuatan MEA



Sterilisasi media



Inokulasi kultur kapang



Aspegillus niger



Tricoderma viride



Acremonium sp. IMI 383068

Kultur kapang pada agar miring

H.4 Persiapan Kultur Kerja



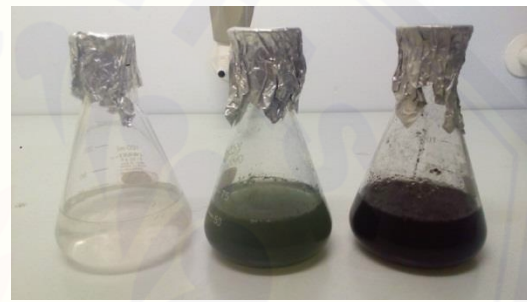
Pembuatan aquades pH 5



Sterilisasi 121°C, 15 menit



Inokulasi kultur kapang pada aquades steril



Kultur kapang pada aquades steril

H.5 Produksi Gula Reduksi



Penimbangan tepung kulit ubi kayu



Penambahan nutrisi



Penyesuaian pH media hidrolisis



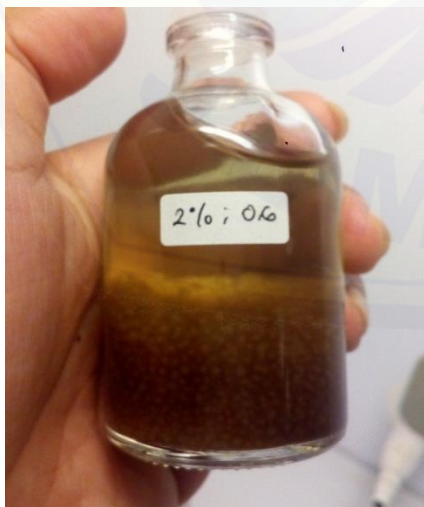
Sterilisasi substrat hidrolisis



Inokulasi kultur campuran kapang



Hidrolisis 60 jam



Pengambilan sampel



Filtrat hidrolisat

H.6 ANALISA KADAR AIR



Penimbangan botol kaca



Botol kaca pada eksikator



Penimbangan botol kaca+tepung



Pengeringan



Botol kaca + sampel pada eksikator



Penimbangan akhir

H.7 ANALISA LIGNOSELULOSA



Penimbangan bahan



Pemanasan pada *water bath*



Penyaringan



Pengeringan



Hidrolisis oleh H_2SO_4 0,5 M pada pendingin balik



Penyaringan



Hidrolisis pada pendingin balik

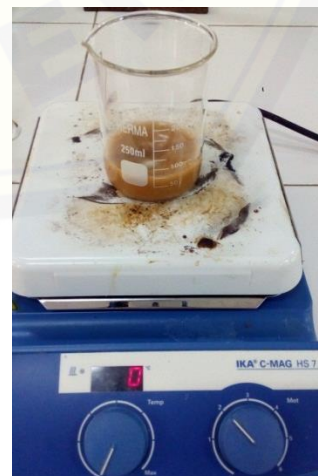


Penyaringan dan penentralan

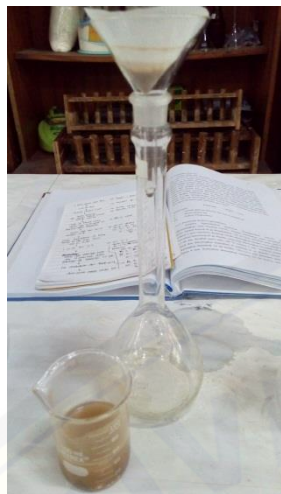
H.8 ANALISA KADAR PATI



Penimbangan tepung



Penambahan aquades dan distirer



Penyaringan



Pencucian dengan ether



Pencucian dengan alkohol 10%



Dihidrolisis dengan HCL25% dalam pendingin balik



Penentralan dengan NaOH 45%



Pengukuran gula reduksi

H.9 ANALISA POPULASI MIKROBA



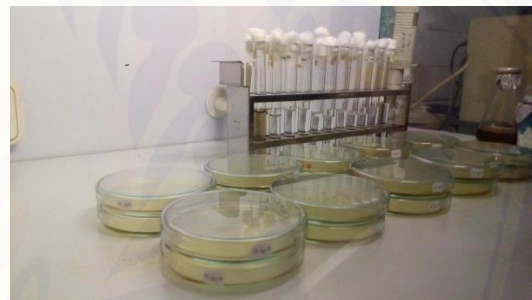
Sampel hidrolisat



Pengenceran hingga 10^{-6}



Plating



Penuangan media hingga memadat



Inkubasi 48 jam



Perhitungan populasi mikroba

H.10 ANALISA GULA REDUKSI



Sentrifus sampel (4000 rpm, 10')



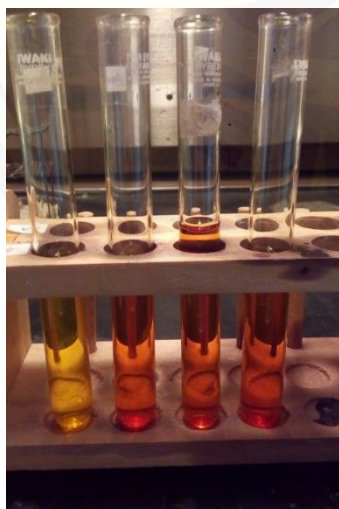
Pengenceran sampel fitral hidrolisat



Penambahan DNS



Pemanasan selama 15 menit



Penambahan aquades hingga volume 10 ml



Pengukuran absorbansi 540 nm

H.11 ANALISA TOTAL GULA TERLARUT



Sentrifuse sampel (4000 rpm, 10')



Pengenceran sampel fitral hidrolisat



Penambahan fenol 5%



Penambahan H₂SO₄ pekat



Pendinginan



Pengukuran absorbansi 490 nm

