

**Pengaruh Enzim Lakase pada Perlakuan Awal Amonium Hidroksida dan
Hidrogen Peroksida dalam Produksi Bioetanol dari Tongkol Jagung**

Fausa Okta Ananta Laksa, Ni Nyoman Tripuspaningsih, Sri Sumarsih

Program Studi S1 Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

Email: jonathan.fausa@gmail.com

Abstract

Corn cobs have much hemicellulose and cellulose which can be hydrolyzed and fermented become bioethanol, but corn cobs have a lignin which can inhibits hydrolysis process, so must require pretreatment to degradation of lignin. The purpose of this research is got the maximum lignin degradation by mixing between the enzymatic and chemical processes. This research will be used NH_4OH , H_2O_2 , laccase with NH_4OH , and laccase with H_2O_2 for the pretreatment of substrate. Based on analysis, the lowest residual lignin of corn cobs in pretreatment with NH_4OH 15%. In this research, laccase was able to degrade partially lignin in substrate but also able to degrade partially hemicellulose, so can be reduced of monosacharide in substrate. Substrate from pretreatment NH_4OH 15% hydrolyzed by enzyme cellulase, xylanase, and xylose isomerase with ratio activity of enzyme 1:1:1 for 6 hours and produce glucose and xylulose. Hydrolyzate of the process enzyme hydrolysis is fermented by the yeast *Saccharomyces cereviceae* for 3 days. Levels content of fermentation's product called ethanol are calculated using the method of Skoog which based on the density of ethanol. These results indicate that levels content of ethanol fermentation about 5.66% (v/v).

Key words: *corn cobs, laccase, xylanase, cellulase, xylose isomerase, bioethanol*

Abstrak

Tongkol jagung banyak mengandung hemiselulosa dan selulosa yang dapat dihidrolisis dan difermentasi menjadi bioetanol, tetapi lignin yang terkandung juga di dalamnya dapat menghambat proses hidrolisis sehingga perlu perlakuan awal untuk degradasi lignin tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan hasil degradasi lignin yang lebih maksimal dengan mencampurkan antara proses enzimatis dan

kimiawi. Oleh sebab itu pada penelitian ini akan digunakan NH_4OH , H_2O_2 , enzim lakase dan NH_4OH , serta enzim lakase dan H_2O_2 untuk proses perlakuan awal terhadap substrat. Berdasarkan hasil analisis, kandungan sisa lignin terendah dalam tongkol jagung adalah perlakuan awal menggunakan NH_4OH 15%. Enzim lakase pada penelitian ini mampu mendegradasi sebagian lignin pada substrat tetapi juga mampu mendegradasi sebagian hemiselulosa, sehingga kadar gula pereduksi dari substrat tersebut berkurang. Substrat perlakuan awal NH_4OH 15% dihidrolisis dengan enzim selulase, xilanase, dan xilosa isomerase dalam rasio aktivitas enzim 1:1:1 selama 6 jam sehingga menghasilkan glukosa dan xilulosa. Hidrolisat dari proses hidrolisis enzim difermentasi dengan ragi *Saccharomyces cereviceae* selama 3 hari. Kadar hasil fermentasi yaitu etanol dihitung dengan metode Skoog yang berdasarkan pada berat jenis etanol tersebut. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar bioetanol hasil fermentasi sebesar 5,66 % (v/v).

Kata Kunci: tongkol jagung, lakase, xilanase, selulase, xilosa isomerase, bioetanol.

1. Pendahuluan

Berbagai pengembangan dan penelitian bahan bakar alternatif berbasis biomassa yang didapatkan dari limbah pertanian seperti bagas tebu, jerami padi, singkong, maupun jagung untuk dikonversikan menjadi bioetanol semakin diminati para peneliti. Bioetanol dapat menjadi bahan bakar alternatif dengan mencampurnya bersama bensin, campuran bensin dan bioetanol ini disebut gasohol, yang mana sudah diterapkan di berbagai negara seperti Brasil, Meksiko, dan Amerika Serikat. Bioetanol yang dicampurkan dengan bensin ini bermanfaat untuk menaikkan nilai oktan bensin, selain itu bermanfaat juga untuk mengurangi jumlah pembelian dan pemakaian bensin yang semakin lama semakin mahal.

Indonesia merupakan negara agraris yang mempunyai limbah pertanian dengan jumlah yang besar setiap tahunnya. Limbah pertanian ini banyak mengandung lignoselulosa yang dapat dikonversikan menjadi bioetanol. Limbah pertanian ini lebih berharga untuk dikonversikan menjadi bioetanol daripada dibuang dan dibakar, sebab pembakaran terhadap limbah ini menyebabkan peningkatan kadar CO_2 di udara, yang berdampak dalam pemanasan global. Limbah pertanian seperti tongkol jagung telah dimanfaatkan para pengembang dan peneliti untuk menjadi bahan plastik, arang briket

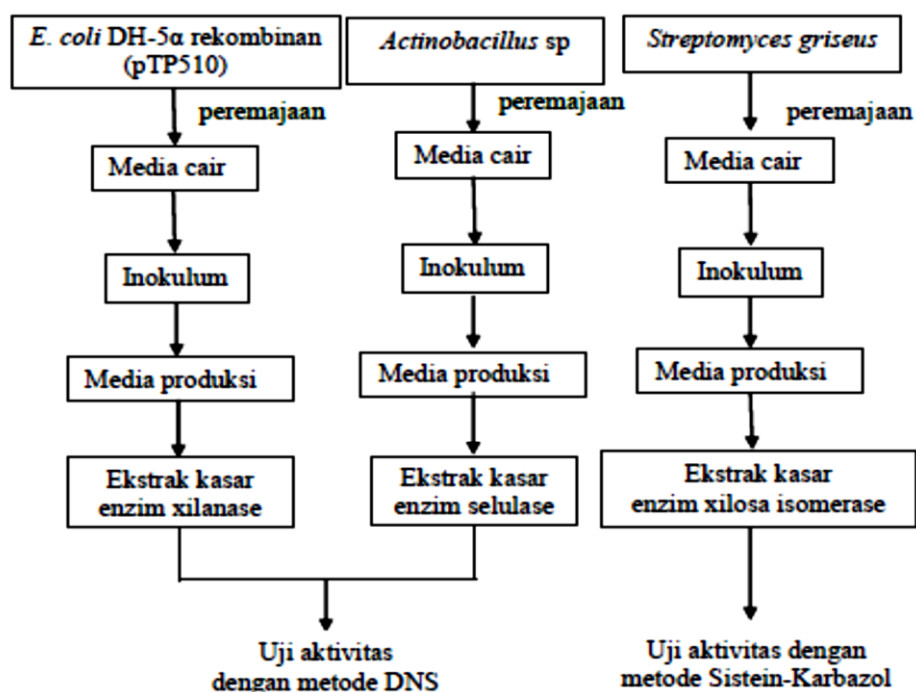
maupun pakan ternak tetapi lebih ekonomis jika limbah tongkol jagung ini dikonversikan menjadi bioetanol, sebab selain bioetanol lebih tinggi harganya daripada produk lainnya, bioetanol akan diperlukan oleh setiap orang untuk campuran dalam premium supaya penggunaan minyak bumi di Indonesia dapat berkurang. Kandungan lignoselulosa dalam tongkol atau bonggol jagung, yaitu selulosa/ heksosan (42%), hemiselulosa/pentosan (39%) dan lignin (14%) (Chandel *et al.*, 2007). Hanya selulosa dan hemiselulosa yang bisa diolah menjadi monosakarida untuk pembuatan bioetanol, sedangkan lignin yang tidak dapat diolah menjadi monosakarida digunakan sebagai bahan bakar cair dalam proses gasifikasi. Pertama kali perlu adanya proses perlakuan awal (*pre-treatment*) yang bertujuan untuk mendegradasi lignin supaya memudahkan enzim mengkatalis substrat dalam waktu yang minimal dan memperoleh produk gula monomer yang maksimal. Proses perlakuan awal biasanya menggunakan pemanasan atau penguapan, sentrifugasi, kimiawi, gelombang ultrasonik dan penggilingan (Nordberg dan Edström, 1997). Penelitian sebelumnya yang dilakukan Pertiwi (2010) masih menghasilkan kadar bioetanol yang masih rendah yaitu 0,142% dengan menggunakan NH_4OH sebagai perlakuan awal, padahal pada penelitian yang dilakukan oleh Kim *et al* (2008) dihasilkan bioetanol sebesar 89,4% dengan perlakuan awal yang sama. Penelitian lainnya dalam perlakuan awal menggunakan H_2O_2 terhadap jerami padi dihasilkan bioetanol minimal sebesar 4%–5% (Inggrid, 2011). Penggunaan H_2O_2 dalam perlakuan awal pada pH optimum sebesar 11,5 menyebabkan sebagian kecil hemiselulosa dan sebagian besar lignin terlarutkan tetapi sebagian besar selulosa tetap utuh dan saat dihidrolisis menggunakan enzim didapatkan hasil yang mendekati teoritis (Drapco *et al.*, 2008). Selain menggunakan cara kimiawi seperti penambahan NH_4OH dan H_2O_2 , proses degradasi lignin dapat dilakukan dengan cara enzimatik yaitu dengan enzim ligninolitik, salah satunya adalah enzim lakase. Penelitian ini mengharapkan adanya degradasi lignin yang lebih maksimal dengan mencampurkan antara proses enzimatik dan kimiawi. Oleh sebab itu pada penelitian ini akan digunakan NH_4OH , enzim lakase dan NH_4OH , H_2O_2 , serta enzim lakase dan H_2O_2 untuk proses perlakuan awal terhadap substrat. Substrat dengan kandungan lignin terendah akan dihidrolisis menggunakan konsorsium enzim selulase, xilanase dan xilosa isomerase. Enzim selulase dapat menghidrolisis selulosa, enzim xilanase mampu menghidrolisis hemiselulosa menjadi monomernya, dan enzim xilosa isomerase mampu merubah xilosa

menjadi xilulosa (Puspaningsih, 2005). Hidrolisat yang diperoleh selanjutnya difermentasi dengan *Saccharomyces cereviceae* untuk menghasilkan bioetanol.

2. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik-Biokimia Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Maret sampai bulan Juli 2012. Enzim lakase didapatkan dari produksi bersama mahasiswa biokimia. Enzim selulase, xilanase, dan xilosa isomerase diproduksi dari isolat koleksi laboratorium biokimia.

Produksi Enzim



Enzim selulase dan xilanase dibuat dalam media Luria Bertani (LB) dengan komposisi 1% tripton; 0,5% *yeast extract*; 1 % NaCl. Dalam pembuatan enzim selulase ditambahkan 1% CMC dan enzim xilanase ditambahkan 0,01 % ampicilin dalam setiap media. Media padat Enzim Xilosa Isomerase terdiri dari D-glukosa 1 gram, MgSO₄.7H₂O 0,02 gram, *yeast extract* 0,5 gram, *bacto agar* 2 gram ditambah akuades sampai 100 ml. Media cair dan media produksi xilosa isomerase memiliki komposisi *yeast extract* 0,5 gram, *bacto pepton* 0,3 gram, kasein hidrolisat 0,5 gram, MgSO₄.7H₂O 0,02 gram, NaH₂PO₄.2H₂O 0,113 gram, Na₂HPO₄.2H₂O 0,1 gram dan

xilosa 1 gram. Enzim selulase merupakan enzim ekstraselular yang didapatkan dari supernatan media produksi sedangkan enzim xilanase dan xilosa isomerase merupakan enzim intraselular yang didapatkan dari lisis pelet dalam buffer phospat ph 7 dengan sonikator. Uji aktivitas enzim selulase dan xilanase digunakan metode DNS dengan masing-masing substrat CMC untuk selulase dan *oat spelt xylan* untuk xilanase. Untuk uji aktivitas xilosa isomerase digunakan metode sistein karbazol dengan substrat D-glukosa.

Perlakuan Awal Substrat Tongkol Jagung

Serbuk tongkol jagung ditimbang masing-masing 50 gram serbuk ditempatkan pada empat Erlenmeyer, kemudian masing-masing Erlenmeyer diberi perlakuan awal berbeda, yaitu H₂O₂ 7,5%, enzim lakase dan H₂O₂ 7,5%, NH₄OH 15%, serta enzim lakase dan NH₄OH 15%.

Hidrolisis Substrat Menggunakan Konsorsium Enzim

Substrat tongkol jagung hasil perlakuan awal dengan kandungan lignin terendah diambil 10 gram dan ditambahkan 100 mL buffer PC pH 7 kemudian disterilisasi. Setelah steril larutan buffer PC dibuang dan substrat tongkol jagung tersebut ditambahkan dengan enzim selulase, xilanase dan xilosa isomerase dengan perbandingan jumlah enzim yang ditambahkan rasio aktivitas 1 : 1 : 1. Substrat yang telah diberi konsorsium enzim diinkubasi pada suhu 45 °C pH 5 (suhu dan pH optimum enzim selulase), kadar gula yang terbentuk diukur dengan metode DNS setiap 30 menit. Setelah absorbansi konstan maka hidrolisis dilakukan pada suhu 70 °C pH 7 (suhu dan pH optimum enzim xilanase dan enzim xilosa isomerase). Kadar gula yang terbentuk, diukur dengan metode DNS setiap 30 menit. Dari proses hidrolisis ini akan diperoleh hidrosilat yang selanjutnya akan difermentasi.

Fermentasi dan Analisis Hidrolisat Tongkol Jagung

Hasil hidrolisis enzim difermentasi dengan ragi *Sachharomyces cereviceae*. Fermentasi dilakukan di Erlenmeyer pada suhu kamar dengan penggojogan 170 rpm yang berisi hidrolisat sebanyak 50 mL dan 10% inokulum yeast *Saccharomyces cereviceae*. Penurunan gula pereduksi diukur setiap harinya dengan metode DNS. Produk fermentasi dalam percobaan ini yang berupa etanol akan ditentukan kadarnya dengan menggunakan metode skoog (1985) yang perhitungannya berdasarkan

berat/bobot jenis. Untuk mengukur bobot jenis digunakan alat piknometer dengan rumus:

$$\text{Bobot Jenis } (\rho) = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0}.$$

Dimana : W_2 = Berat piknometer berisi etanol (gram), W_1 = Berat piknometer berisi air (gram), W_0 = Berat piknometer kosong (gram).

Setelah diketahui bobot jenisnya, kadar etanol dapat diketahui dari daftar tabel hubungan antara kadar alkohol dan berat jenis dalam SNI (Standar Nasional Indonesia) nomor 1-4026-1996 tentang liqueur. Selain itu dalam penelitian ini untuk menentukan kadar etanol digunakan juga alkoholmeter.

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dimulai dengan mempersiapkan serbuk tongkol jagung untuk diberikan perlakuan awal dengan penggunaan H_2O_2 7,5%, enzim lakase dan H_2O_2 7,5%, NH_4OH 15%, serta enzim lakase dan NH_4OH 15%. Perlakuan awal ini bertujuan untuk mendegradasi lignin sehingga selulosa dan hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis oleh enzim sebab adanya lignin menyebabkan bahan selulosa dan hemiselulosa sulit untuk dihidrolisis (Alder, 1977). Analisis dilakukan di Laboratorium Biokimia Pangan Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada.

Tabel 3.1 Hasil Analisis Kandungan Lignoselulosa Tongkol Jagung.

Perlakuan	Hemiselulosa (%)	Selulosa (%)	Lignin (%)
Tanpa Perlakuan awal	43,89	32,8	12,975
NH_4OH 15%	14,64	53,26	8,19
Enzim lakase + NH_4OH 15%	60,54	61,09	9,58
H_2O_2 7,5%	29,19	44,58	10,46
Enzim lakase + H_2O_2 7,5%	23,55	45,34	10,79
Enzim lakase	23,72	30,28	8,51

Dalam Tabel 3.1 di atas, NH_4OH 15 % yang memiliki hasil analisis terbaik sebab memiliki sisa lignin paling kecil. Hal ini dikarenakan lignin memiliki sifat larut dalam alkali encer. Pada perlakuan enzim lakase + NH_4OH 15% terdapat hasil analisis kurang baik, karena kandungan hemiselulosa melebihi kontrol. Penggunaan H_2O_2

7,5%, maupun enzim lakase + H₂O₂ 7,5% sesungguhnya memiliki kandungan selulosa dan hemiselulosa cukup tinggi tetapi kandungan ligninnya yang masih tinggi serta sifat hidrogen peroksida yang kurang ramah lingkungan menyebabkan tidak dilanjutkan dalam proses hidrolisis enzim. Sementara itu, enzim lakase pada perlakuan awal mempengaruhi komposisi lignin, hemiselulosa maupun selulosa. Meskipun dari hasil enzim lakase + H₂O₂ 7,5% dan enzim lakase + NH₄OH 15% komposisi ligninnya masih tinggi, tetapi dalam perlakuan enzim lakase saja, komposisi lignin cukup rendah dan kandungan hemiselulosanya turun sehingga dapat disimpulkan bahwa enzim lakase dapat melarutkan lignin bahkan hemiselulosa. Komposisi lignin yang masih besar pada perlakuan enzim lakase + H₂O₂ 7,5% dan enzim lakase + NH₄OH 15% dapat dipengaruhi oleh aktivitas enzim yang kecil maupun kondisi parameter optimasi yang berbeda dibandingkan perlakuan enzim lakase saja. Oleh sebab itu pada penelitian selanjutnya disarankan untuk menempatkan enzim lakase tidak pada perlakuan awal tetapi pada proses hidrolisis enzim bersama selulase, xilanase dan xilosa isomerase. Sebab hidrolisat dari hasil perlakuan awal enzim lakase mengandung gula monosakarida yang ditandai dengan adanya endapan merah bata setelah ditetesi larutan benedict dan dipanaskan dalam air mendidih.

Produksi Enzim Selulase dari *Actinobacillus* sp.

Produksi enzim selulase diawali dengan peremajaan isolat *Actinobacillus* sp pada media padat Luria Bertani (LB) dengan penambahan CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*). Penambahan CMC dengan tujuan agar isolat yang tumbuh adalah isolat bakteri penghasil enzim selulase saja. Kemudian dilakukan pembuatan inokulum yang dibuat dengan menginokulasikan biakan *Actinobacillus* sp ke dalam media cair Luria Bertani untuk menyiapkan koloni bakteri yang lebih muda dan mampu menghasilkan lebih banyak enzim. Proses akhir produksi dilanjutkan dengan pembuatan media produksi enzim dimana dilakukan penggojokan 150 rpm selama 18 jam pada suhu 40° C. Hasil yang diperoleh disentrifugasi dan diambil supernatannya karena enzim selulase *Actinobacillus* sp ini merupakan enzim ekstraselular. Enzim yang terbentuk diukur aktivitas enzimnya dengan metode DNS (asam 3,5 dinitrosalisilat). Dari hasil uji gula pereduksi didapatkan aktivitas rata-rata enzim selulase sebesar 0,0678 U/ml. Satu unit aktivitas enzim selulase adalah jumlah enzim yang dibutuhkan untuk melepaskan 1 µmol gula pereduksi dalam satu menit pada kondisi pengujian.

Produksi Enzim Xilanase dari *E. coli* DH5 α Rekombinan (pTP510)

Proses awal dari produksi enzim xilanase diawali dengan peremajaan isolat *E. coli* DH5 α Rekombinan (pTP510) pada media padat Luria Bertani yang mengandung ampicilin sebagai antibiotik, sebab *E. coli* DH5 α Rekombinan (pTP510) merupakan bakteri rekombinan yang mengekspresikan gen resisten ampicilin sehingga dapat bertahan hidup pada media yang mengandung ampicilin. Setelah didapatkan koloni tunggal, maka dilakukan pembuatan inokulum dan produksi enzim xilanase pada media cair produksi enzim dengan penggojokan 150 rpm selama 18 jam pada suhu 37°C. Pada proses akhir, dilakukan sentrifugasi dan didapatkan pelet dan supernatan. Supernatannya dibuang, lalu pelet dilarutkan dalam buffer fosfat sitrat pH 7 dan dilisis dengan ultrasonikator. Supernatan dari hasil sentrifugasi merupakan enzim xilanase. Setelah enzim xilanase didapatkan, maka dilanjutkan dengan pengukuran aktivitas enzim xilanase. Aktivitas enzim xilanase diukur dengan mengukur banyaknya gula pereduksi yang dihasilkan dengan metode DNS. Dari hasil uji didapatkan rata-rata aktivitas enzim xilanase adalah sebesar 0,1425 U/mL. Satu unit aktivitas enzim xilanase adalah jumlah enzim yang dibutuhkan untuk melepaskan 1 μ mol gula pereduksi dalam satu menit pada kondisi pengujian

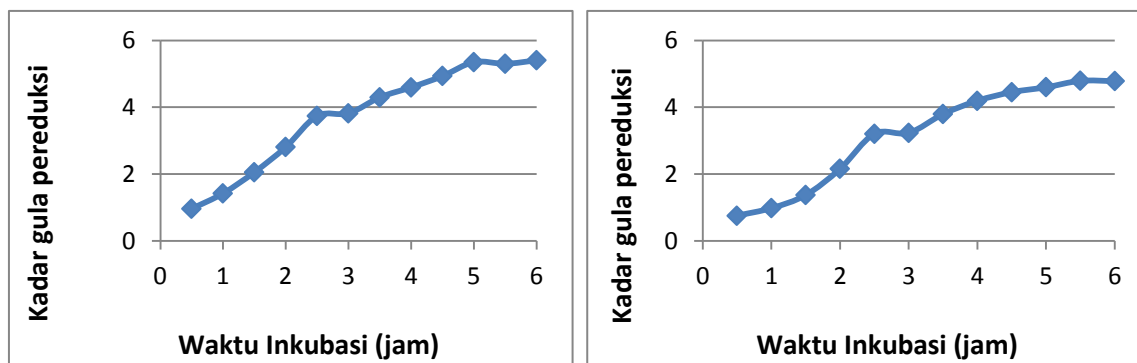
Produksi enzim Xilosa isomerase dari *Streptomyces griseus*

Enzim xilosa isomerase memiliki sinonim nama glukosa isomerase. Proses produksi enzim juga diawali dengan peremajaan isolat *Streptomyces griseus* pada media padat. Setelah didapatkan koloni tunggal, maka dilakukan proses inokulasi pada media cair dengan penggojokan 170 rpm selama 24 jam suhu 30°C. Setelah itu dilakukan proses produksi enzim pada media cair, panen enzim dilakukan pada jam ke-42 karena pada waktu tersebut merupakan waktu pertumbuhan optimum *Streptomyces griseus*. Pada proses akhir, dilakukan sentrifugasi dan didapatkan pelet dan supernatan. Supernatannya dibuang, lalu pelet dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7 dan dilisis dengan ultrasonikator. Supernatan dari hasil sentrifugasi merupakan enzim xilosa isomerase. Setelah enzim xilosa isomerase didapatkan, maka dilanjutkan dengan pengukuran aktivitas enzim xilosa isomerase. Aktivitas xilosa isomerase diukur dengan mengukur banyaknya isomer gula yang terbentuk dengan metode sistein karbazol. Enzim xilosa isomerase akan mengubah glukosa menjadi isomernya, yaitu fruktosa. Dari hasil uji didapatkan aktivitas enzim xilosa isomerase adalah sebesar 0,086 U/mL.

Satu unit aktivitas xilosa isomerase adalah jumlah enzim yang dibutuhkan untuk melepaskan 1 μmol gula isomer dalam satu menit pada kondisi pengujian.

Hidrolisis Menggunakan Konsorsium Enzim

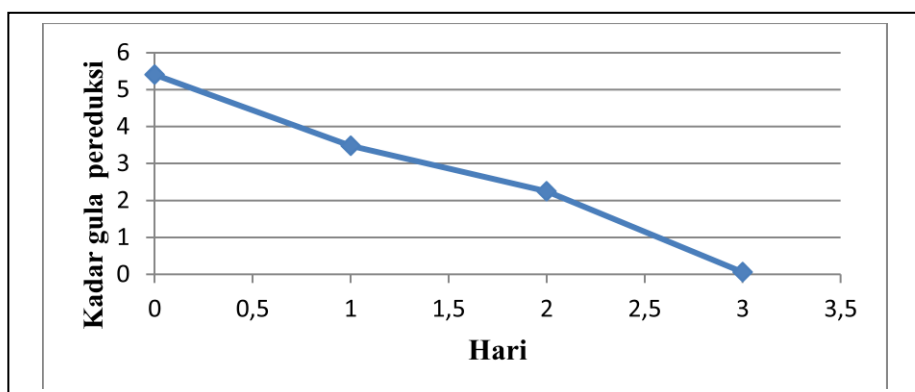
Tongkol jagung dihidrolisis dengan konsorsium enzim yang artinya penggunaan lebih dari satu macam enzim dalam satu wadah dimana enzim bekerja sesuai peranannya masing-masing yaitu enzim selulase, xilanase dan xilosa isomerase. Ketiga enzim tersebut secara bersamaan dicampur dengan perbandingan rasio aktivitas enzim 1 : 1 : 1 ke dalam tongkol jagung perlakuan awal NH_4OH 15% serta enzim lakase + NH_4OH 15%. Sebab pada rasio aktivitas enzim 1 : 1 : 1 tumbukan antar molekul-molekul substrat dengan enzim lebih tinggi dibandingkan dengan rasio yang lain, sehingga penyusupan molekul enzim ke dalam substrat lebih sering terjadi (Pertiwi, 2010). Tahap awal, suhu dan pH diatur pada suhu dan pH optimum enzim selulase, yaitu 45 °C dan pH 5, penurunan pH digunakan penambahan H_2SO_4 1% tetes demi tetes. Setelah itu setiap 30 menitnya diukur menggunakan metode DNS. Setelah absorbansi konstan, maka dilanjutkan dengan mengatur suhu dan pH optimum untuk enzim xilanase dan enzim xilosa isomerase pada suhu 70 °C dan pH 7 yang merupakan suhu dan pH optimum untuk enzim xilanase dan enzim xilosa isomerase. Untuk menaikkan pH digunakan penambahan NaOH 2% tetes demi tetes. Kadar gula pereduksi dihitung berdasarkan kurva standar glukosa dan absorbansi. Kadar gula pereduksi tertinggi 5,4039 mg/mL dihasilkan dari hidrolisis tongkol jagung perlakuan NH_4OH 15%. Dapat disimpulkan bahwa kandungan selulosa dan hemiselulosa tertinggi terdapat pada perlakuan NH_4OH 15% bukan enzim lakase + NH_4OH 15%, sehingga disimpulkan juga bahwa kandungan lignoselulosa enzim lakase + NH_4OH 15% sebenarnya lebih rendah dari hasil analisis.



Gambar 3.1 Kurva Hubungan Kadar Gula Pereduksi Dengan Metode DNS Terhadap Variasi Waktu Inkubasi.

Fermentasi

Setelah proses hidrolisis konsorsium enzim didapatkan hidrolisat sebanyak 60 ml pada perlakuan awal NH_4OH 15% yang mempunyai kadar gula pereduksi tertinggi. Hidrolisat tersebut dimasukkan dalam Erlenmeyer dan ditambahkan inokulum yeast *Saccharomyces cereviceae* sebanyak 10 % dan pH diatur 5 dengan menambahkan HCl 1% lalu dilakukan penggojokan 170 rpm pada suhu kamar. Proses fermentasi dilakukan secara anerob agar yeast *Saccharomyces cereviceae* mampu memfermentasi gula pereduksi menjadi etanol. Gula pereduksi selama fermentasi diukur untuk mengetahui bahwa terjadi penurunan gula pereduksi yang ditunjukkan dengan penurunan absorbansi, yang dirubah menjadi etanol oleh yeast *Saccharomyces cereviceae*. Berikut kurva absorbansi pada penentuan gula pereduksi dengan metode DNS selama fermentasi serta kadar gula pereduksi.



Gambar 3.2 Kurva Kadar Gula Pereduksi Selama Fermentasi

Kurva gambar 3.2 menunjukkan penurunan kadar gula pereduksi selama fermentasi setiap harinya sampai pada hari ke tiga. Hal ini menunjukkan bahwa monosakarida-monosakarida telah difermentasi oleh ragi. Fermentasi dihentikan pada hari ke-3, dikarenakan absorbansi pada kurva gambar 4.4 menunjukkan angka yang kecil, sehingga tidak ada lagi gula sederhana yang akan difermentasi oleh yeast *Saccharomyces cereviceae* menjadi etanol. Pada proses fermentasi, terdapat parameter yang harus diatur untuk mendapatkan kadar bioetanol yang tinggi. Parameter tersebut antara lain adalah aerasi (suplai O_2) dan pH media fermentasi. Aerasi (suplai O_2) sangat dibutuhkan ragi untuk pertumbuhan. Walaupun proses fermentasi etanol dilakukan secara anerob, namun yeast *Saccharomyces cereviceae* juga membutuhkan O_2 (aerob)

untuk pertumbuhannya. Fermentasi etanol yang baik dilakukan pada pH 5-6, karena pada pH tersebut etanol dihasilkan secara maksimal (Chande *et al.*, 2007).

Analisis Produk Fermentasi

Produk fermentasi dalam penelitian ini berupa etanol, untuk menentukan kadarnya produk ini dihitung dengan menggunakan metode Skoog. Metode Skoog dimulai dengan cara menimbang piknometer kosong lalu memasukkan produk fermentasi yang dihasilkan dari penelitian ini dalam piknometer. Piknometer yang berisi produk didinginkan dengan air dingin selama 3 menit lalu dikeringkan bagian luar piknometer dan ditimbang. Berat piknometer berisi produk dibandingkan dengan berat piknometer berisi akuades sehingga didapatkan berat jenis produk tersebut. Akuades digunakan sebagai pembanding sebab memiliki berat jenis yang lebih besar dari alkohol. Kadar etanol didapatkan dari tabel hubungan antara kadar alkohol dan berat jenis dalam SNI (Standar Nasional Indonesia) nomor 1-4026-1996 tentang liqueur, selain itu untuk mengetahui ketepatan perhitungan metode Skoog digunakan alkoholmeter untuk mengukur kadar etanol tersebut.

Produk etanol yang dihasilkan dari fermentasi tongkol jagung hasil perlakuan awal NH_4OH 15% adalah 5,66 % (v/v). Begitu juga hasil alkoholmeter menunjukkan skala kadar alkohol sebesar 6 % (v/v).

4. Kesimpulan

1. Perlakuan awal menggunakan NH_4OH 15% merupakan perlakuan yang dapat menghilangkan kadar lignin secara maksimal yaitu 8,19%.
2. Penambahan enzim lakase pada perlakuan awal enzim lakase + NH_4OH dan enzim lakase + H_2O_2 dapat menghidrolisis sebagian hemiselulosa sehingga menurunkan kadar gula pereduksi dan kadar bioetanol.
3. Kadar bioetanol yang didapat dari fermentasi hasil hidrolisis tongkol jagung menggunakan perlakuan awal NH_4OH 15% dan konsorsium enzim pada rasio enzim selulase : xilanase : xilosa isomerase 1 : 1 : 1 adalah 5,66 % (v/v).

5. Daftar Pustaka

- Anonimus. 1996. Standar Nasional Indonesia SNI 01-4026-1996 Liqueur. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Alder, E. 1977. Lignin chemistry: Past, present and future. *Wood Sci. Technology*. 11:169–218.
- Anindyawati, Trisanti. 2009. Prospek Enzim dan Limbah Lignoselulosa Untuk Produksi Bioetanol. Makalah Penelitian. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong.
- Beg, Q.K., M. Kapoor, L. Mahajan, and G.S. Hoondal. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications; a review. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:326-338.
- Berg, J.M., J.L.Tymoczko, and L. Stryer. 2007. *Biochemistry*. Sixth Edition. UW.H.Freeman and company. New York.
- Chandel, A. K., E.S. Chan., R. Rudravaram, M. L. Narasu, L. V. Rao, and P. Ravindra. 2007. Economics and Environmental Impact of Bioethanol Production Technologies : An Appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review* Vol. 2 (1), 14-32.
- Crueger, W., A. Crueger. 1990. *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*, Science Tech Publisher. USA
- Dekker, R.F.H. 1983. Bioconversion of hemicellulose: Aspect of hemicellulose production by *Trichoderma reesei* QM 9414 and enzymic saccharification of hemicellulose. *Biotechnol. Bioeng.* 25:1127-1146.
- Drapco, C.M., Nghiem-Phu-Nhuan and T.H. Walker. 2008. *Biofuels Engineering Process Technology*. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York. 25-30, 80-84, 134-174.
- Fessenden, R., J.Fessenden. 1994, *Organic Chemistry*, 5th ed., Wadsworth, Inc Belmont, California.
- Giancoli, Douglas C. 1998. *Physics: Principles with Applications*. Fifth Edition. Upper Saddle River, NJ, Prentice Hall.
- Inggrid, M., C. Yonathan, H. Djojotubroto. 2011. Pretreatment Sekam Padi dengan Alkali Peroksida dalam Pembuatan Bioetanol. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”. Yogyakarta.

- Kim, T. H., F. Taylor, K.B. Hicks. 2008. "Bioethanol Production from Barley Hull using SAA (soaking in aqueous ammonia) Pretreatment." *Bioresource Technology*. 99 : 5694–5702
- Monika, Ek., G. Gellerstedt, G. Henriksson. 2009. *Pulp and Paper Chemistry and Technology Volume 1. Wood Chemistry and Wood Biotechnology*. Walter de Gruyter GmbH & Co. Berlin.
- Nordberg, Å and M. Edström. 1997. *Optimering av Biogasprocessen for Lantbruksrelaterade Biomassor. JTI-rapport Kretslopp & Avfall*.
- Pertiwi, A. D. 2010. *Pemanfaatan Tongkol Jagung (Zea mays) Sebagai Bahan Baku Produksi Bioetanol Dengan Konsorsium Enzim [Skripsi]*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga.
- Purnomo, H. dan Rochma. 2004. *Pembuatan Glukosa dari Bagas Secara Enzimatis dengan Perlakuan Pendahuluan [Skripsi]*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Puspaningsih, N.N.T., 2005. *Peranan Enzim Xilanolitik dalam Biokonversi Hemiselulosa*. Prosiding Seminar Nasional Biomassa Lignoselulosa. Universitas Airlangga.
- Rachmawati, E. dan G.K.Wadrianto. 2011. *Konsumsi Premium Melebihi Kuota*. <http://bisniskeuangan.kompas.com/read/2011/03/21/13173525/Konsumsi.Premium.Melebihi.Kuota>. [16 Oktober 2011]
- Reinhammar B.1984. Laccase. In: Lontie R. (Ed.). *Copper proteins and copper enzymes*, Vol. III. CRC Press, Boca Raton. Pp. 1-35.
- Risdianto, H. 2007. *Produksi Lakase dari Marasmius sp. menggunakan Bioreaktor Imersi Berkala Termodifikasi untuk Pemutihan Pulp Kimia [Tesis]*. Fakultas Teknik. Institut Teknologi Bandung.
- Riva, S., 2006, Laccases : blue enzymes for green chemistry, *J Biotechnology*, 24 : 119-226.
- Rukmana, Rahmat. 1997. *Usaha Tani Jagung*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 20-21
- Sjöström, E. 1981. *Wood Chemistry : Fundamental and Applications*. Academic Press,inc. New York. 68-82.
- Skoog, D. A., 1985. *Principles of Instrumental Analysis*. Saunder College Publishing, Japan.

Tuomela, M., 2002, Degradation of lignin and other ^{14}C -labelled compounds in compost and soil with an emphasis on white-rot fungi, *Thesis*, University of Helsinki, Finland.

U.S. Department Of Energy. 2011. Fuels Properties. Alternative Fuels and Advanced Vehicle Data Center. Energy Efficiency and Renewable Energy. <http://www.afdc.energy.gov>.