

Bidang Ilmu* : MIPA (KIMIA)

**LAPORAN LAPORAN PENELITIAN
DISERTASI DOKTOR**



**Biokonversi Lignoselulosa Dari Tongkol Jagung (*Zea
Mays.L*) Menjadi Bioetanol Sebagai Bahan Bakar
Alternatif Terbarukan**

PENELITI:

(Mahyati, ST., M.Si)
NIP.197009292002122001
NIDN. 0029097006

Dibiayai Oleh Ditlitabmas Ditjen Dikti melalui DIPA Politeknik Negeri Ujung
Pandang Sesuai Dengan Kontrak No. 148/PL10.21/SP/2013 Tanggal 15 Mei 2013

**Politeknik Negeri Ujung Pandang
November, 2013**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Biokonversi Lignoselulosa Dari Tongkol Jagung (*Zea Mays.L*) Menjadi Bioetanol Sebagai Bahan Bakar Alternatif Terbarukan

Peneliti / Penelitian :

Ketua
Nama Lengkap : Mahyati, ST., M.Si
NIDN : 0029097006
Jabatan Fungsional : Lektor / III d
Program Studi : Teknik Kimia
Perguruan Tinggi : Politeknik Negeri Ujung Pandang
No HP : 085298353527
Alamat Surel (e-mail) : mahyati@yahoo.com
Anggota (1)
Nama Lengkap : Tidak Ada
NIDN : Tidak Ada
Perguruan Tinggi : Tidak Ada
Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : Tidak Ada
Alamat Penanggung Jawab : Tidak Ada
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 1 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 40.000.000,- (*Empat puluh juta rupiah*)

Makassar, 13 November 2013

Mengetahui,
Direktur Politeknik Negeri Ujung Pandang

Dr. Firman, M.Si
NIP. 196312251989031002

Ketua Peneliti

Mahyati, ST, M.Si
NIP.197009292002122001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian
Politeknik Negeri Ujung Pandang

Ir. Syaharuddin Rasvid, MT
NIP. 196801051994031001

RINGKASAN

Produksi jagung di Sulawesi-Selatan mencapai 1,28 juta ton/tahun (BPS, 2011) dimana terdapat limbah tongkol jagung sebanyak 30% dari berat total jagung (Koswara, 1991) yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Bioetanol merupakan salah satu jenis bahan bakar nabati (Badger, 2002) dan menjadi solusi alternatif terhadap kebergantungan pada minyak bumi, menciptakan lapangan kerja di daerah pedesaan, mengurangi polusi udara, dan mengurangi perubahan iklim global akibat bertambahnya karbon dioksida serta pemanfaatan limbah pertanian. Bioetanol dapat meningkatkan efisiensi pembakaran (Hambali, dkk., 2007) tanpa merubah konstruksi mesin bensin, bahan ini dapat menggantikan MTBE (metil tersier butil eter) atau TEL (tetra etil lead) yang kurang aman terhadap lingkungan.

Kegiatan penelitian yang dilakukan adalah membuat bioetanol skala kecil (5 liter) dengan melihat kajian yang berpengaruh terhadap produktifitas bioetanol secara optimal antara lain : proses pretreatment yang menggunakan beberapa jamur pelapuk putih (*Phanerochaete chrysosporium*, *Lentinus edodes* dan *Pleurotus ostreatus*). Setelah itu dilakukan proses sakarifikasi yang menggunakan kombinasi *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* serta proses fermentasi yang menggunakan kombinasi *Zymomonas mobilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* secara serempak.

Kedua mikroba tersebut, divariasikan untuk mengkonversi selulosa dan hemiselulosa tongkol jagung menjadi glukosa serta dilanjutkan pada proses fermentasi menjadi bioetanol variasi kombinasi mikroba *Z. mobilis*, dan *S. cerevisiae*. Bakteri *Z. mobilis* merupakan mikroorganisme potensial untuk memproduksi etanol dengan rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan *S. cereviceae* dan lebih toleran terhadap lingkungan berkadar alkohol tinggi dan pH asam. Meski begitu *Z. mobilis* mempunyai kelemahan antara lain tidak sanggup mengubah polimer karbohidrat kompleks seperti selulosa, hemiselulosa menjadi etanol, menghasilkan produk samping meliputi asam asetat, gliserol, aseton dan sorbitol. Sebagai bakteri potensial, *Z. mobilis* memang dikenal mampu membentuk alkohol 3 kali lebih cepat dibandingkan dengan *S. cereviceae*.

Bioetanol dimurnikan dengan metode distilasi dan membran pervaporasi dari kitosan untuk mendapatkan konsentrasi bioetanol mencapai 99,9% sebagai bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan. Bioetanol murni dibuat gasohol E-10 kemudian diuji cobakan ke mesin bensin serta uji emisi terhadap hasil pembakarannya.

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Pengesahan	ii
Ringkasan	iii
Daftar Isi	iv
Daftar Tabel	v
Daftar Gambar	vi
Daftar Lampiran	x
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	2
2.1 Tongkol Jagung	2
2.2. Jamur Pelapuk Putih	3
2.3. Pembuatan bioetanol	4
2.4 Bakteri <i>Zymomonas mobilis</i>	5
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	7
3.1 Secara khusus tujuan penelitian	7
3.2 Manfaat Penelitian	7
BAB IV METODE PENELITIAN	8
4.1 Penyiapan Peralatan	8
4.2 Bahan	8
4.3 Prosedur Kerja	8
4.4 Proses sakarifikasi dan fermentasi secara serempak (SSF)	10
4.5 Proses pemurnian bioetanol dengan menggunakan membran pervaporasi	11
4.6 Analisis Ligning, Hemiselulosa dan Selulosa	12
4.7 Analisis Kadar Bioetanol dengan GC Internal Standar	13
4.8 Uji Emisi Buang Bahan Bakar	13
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	14
5.1 Biolignifikasi tongkol jagung dengan jamur pelapuk putih	14
5.2 Proses hidrolisis selulosa dari tongkol jagung	22
5.3 Proses fermentasi bioetanol dengan Metode SSF	26
5.4 Proses pemurnian bioetanol sebagai bahan bakar alternatif biofuel	atau 30
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	37
6.1 Kesimpulan	37
6.2 Saran	37
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi bahan untuk media agar miring	9
2. Komposisi bahan untuk medis inokulum	10
3. Komposisi bahan untuk media sakarifikasi dan fermentasi	11
4. Hubungan kandungan lignin dan selulosa(%) pada tongkol jagung terhadap waktu inkubasi jamur pelapuk putih	15
5. Persentase kehilangan kandungan lignin dan selulosa (%) dari tongkol jagung terhadap waktu inkubasi jamur pelapuk putih	16
6. Persentase kandungan lignin dan selulosa (%) dari tongkol jagung terhadap waktu inkubasi pada campuran 2 spesies jamur pelapuk putih	18

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Persentase kandungan lignin terhadap waktu inkubasi dengan penggunaan inokulum tunggal dari jamur pelapuk putih	15
2. Persentase kehilangan kandungan lignin dan selulosa (%) dari tongkol jagung terhadap waktu inkubasi pada campuran 2 spesies jamur pelapuk putih	19
3. Persentase kehilangan kandungan lignin dan selulosa (%) dari tongkol jagung terhadap waktu inkubasi pada campuran 3 spesies jamur pelapuk putih	21
4. Hasil dari delignifikasi tongkol jagung dengan menggunakan inokulum campuran 3 spesies jamur pelapuk putih	22
5. Pengaruh persentase kandungan glukosa tongkol jagung terhadap waktu hidrolisis (hari) dan pH awal substrat	26
6. Pengaruh persentase konsentrasi bioetanol (%) terhadap waktu hidrolisis (hari) dan pH awal substrat	29
7. Spektrum FTIR membran kitosan glutaraldehid	32
8. Kurva standar bioetanol	33

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lahan jagung (*Zea mays.L*) di Sul-Sel mencapai 424 ribu ha dengan produktivitas mencapai 18,51 juta ton pipilan kering (BPS, 2013). Limbah tongkol jagung sebanyak 30% dari berat total jagung (384 juta kilo pertahun), sehingga dapat dibayangkan limbah tongkol jagung yang belum dimanfaatkan secara maksimal.

Komposisi tongkol jagung terdiri dari Selulosa 40 %, Hemiselulosa 36 %, Lignin 16 % dan lain-lainnya berkisar 8 %. Lignin merupakan suatu makro molekul kompleks, aromatik alami yang bercabang – cabang dan mempunyai struktur tiga dimensi yang tersusun dari fenil propanoid. Lignin membentuk matriks yang mengelilingi selulosa dan hemiselulosa, penyedia kekuatan pohon dan pelindung dari biodegradasi.

Teknologi proses dalam biodelignifikasi pada lignoselulosa telah lama dikembangkan agar selulosa dan hemiselulosa dapat dimanfaatkan, dengan menggunakan asam sulfat (H_2SO_4). Namun metode ini kurang ramah terhadap lingkungan karena membutuhkan biaya bahan kimia yang relatif mahal, juga dapat menyebabkan korosif dan membentuk senyawa karsinogen. Selanjutnya metode delignifikasi menggunakan enzim yang harganya cukup mahal sehingga penerapannya ke masyarakat menemukan suatu kendala diantaranya teknologi dan biaya produksi bioetanol menjadi mahal.

Pada penelitian ini, proses delignifikasi tongkol jagung yang menggunakan kultur campuran dari jamur pelapuk putih yaitu *P. chrysosporium*, *L. edodes* dan *P. ostreatus*. Selanjutnya dilakukan proses sakarifikasi menggunakan kombinasi *A. niger*, *T. reesei*, *Z. mobilis*, dan *S. cerevisiae* secara serempak.

Produk bioetanol dimurnikan dengan distilasi pervaporasi untuk mendapatkan bioetanol fuel grade kemudian dicampurkan ke premium menjadi gasohol (E-10) sebagai bahan bakar alternatif terbarukan yang rendah emisi.

BAB II. **STUDI PUSTAKA**

2.1 Tongkol Jagung

Limbah tongkol jagung sebanyak 30% dari berat total jagung (Koswara,1991) merupakan salah satu sumber lignoselulosa yang ketersediaannya cukup melimpah, dimana produksi jagung di Sulawesi-Selatan tahun 2013 mencapai 18,51 juta ton pipilan kering (BPS, 2013). Pada proses pemanfaatan tongkol jagung sebagai bahan baku pembuatan bioetanol, perlakuan awal diperlukan karena bahan tersebut mengandung lignin yang bersifat sebagai pelindung pada jaringan tanaman dan sulit terurai oleh mikroorganisme di dalam tanah.

Tongkol jagung (*Zea Mays L.*) merupakan limbah pertanian yang masih kurang dimanfaatkan. Tongkol jagung mengandung 80–85% holoselulosa (selulosa dan hemiselulosa) dan 15-20% lignin. Penelitian yang dilakukan oleh Kumar, dkk., (2010), menunjukkan bahwa tongkol jagung mengandung cukup banyak α -selulosa (47,27%), β -selulosa (25,45%), dan γ -selulosa (27,27%).

Selanjutnya, suatu masalah yang sangat serius dihadapi oleh pemerintah Indonesia saat ini tentang krisis bahan bakar terutama minyak bumi. Suatu kebijakan pemerintah untuk menyelamatkan devisa negara dengan cara mengurangi subsidi bahan bakar minyak yaitu menaikkan harga bahan bakar minyak. Masalah energi ini, dapat mempengaruhi segala aspek kehidupan diantaranya sosial, politik, ekonomi dan keamanan nasional sehingga perlu segera dicarikan suatu pemecahannya, sesuai kebijakan pemerintah Indonesia tentang pemanfaatan bahan bakar alternatif sampai tahun 2025 (Perpres No.5, 2006). Suatu solusi yang dapat ditawarkan untuk menanggulangi permasalahan tersebut, yaitu mengoptimalkan pemakaian sumber-sumber energi lain diantaranya pemanfaatan lignoselulosa sebagai sumber energi nabati alternatif terbarukan.

Lignoselulosa sebanyak 36 % pada tongkol jagung sangat dimungkinkan untuk dimanfaatkan menjadi sumber energi alternatif (bioetanol atau biogas). Pemanfaatan lignoselulosa pada tongkol jagung dikonversi menjadi etanol merupakan suatu skenario yang mengaju pada kebijakan pemerintah yang telah

menetapkan salah fokus penelitian dan penerapan Iptek (litbangrap Iptek) sampai tahun 2025 adalah penciptaan dan pemanfaatan energi baru dan terbarukan.

2.2 Jamur Pelapuk Putih

Pada umumnya enzim yang berperan dalam proses pendegradasi lignin dan mampu mengoksidasi senyawa-senyawa fenol, seperti *lignin-peroksidase* (LiP), *manganese-peroksidase* (MnP) dan *laccase* (Lac) dan *versatile peroxidase* (VP) dapat dihasilkan oleh mikroba (Srinivasan, dkk., 1995). Oleh karena itu, penggunaan mikroba penghasil beberapa enzim pendegradasi lignin seperti jamur pelapuk putih menjadi solusi alternatif.

Kemampuan degradasi jamur pelapuk putih dan komponen kimia yang degradasinya sangat bergantung pada jenis jamur dan enzim lignolitik yang dihasilkannya. Jamur pelapuk putih pada umumnya mengeluarkan enzim lignolitik seperti *lignin peroksidase* (LiP), *mangan peroksidase* (MnP), *versatil peroksidase* (VP), *laccase*, *glyoxal oxidase* (glox), *aril alkohol oksidase* (AAO), dan *hidrogen peroksidase* lainnya (Hatakka, 2001).

Jamur *P. chrysosporium* dapat menghasilkan enzim pendegradasi lignin yaitu *lignin peroksidase* dan *mangan peroksidase* tetapi tidak menghasilkan enzim *laccase* (Howard, dkk., 2003). Enzim *laccase* diproduksi oleh *L. edodes* dan *versatile peroxidase* (VP) diproduksi oleh jamur *P. ostreatus* (Dashtban, dkk., 2010)

Beberapa studi sebelumnya menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih dari spesies *P. chrysosporium* ini memproduksi enzim yang dapat mendegradasi lignin dengan cepat. Menurut Dey, dkk. (1994), *P. chrysosporium* lebih efisien 3 kali atau lebih dibandingkan *Polyporus Ostreiformis* dalam mendegradasi lignin dengan waktu inkubasi 3 minggu pada suhu 38 °C dan kelembaban 90%. Kehilangan lignin pada batang jagung dapat mencapai 81,4% pada inkubasi selama 30 hari dengan menggunakan *P. chrysosporium* dilaporkan oleh Fadilah, dkk. (2008).

Kerem dkk (1992), mempelajari degradasi lignin pada fermentasi padat tangkai kapas dengan menggunakan *P. ostreatus* dan *P. chrysosporium*. Hasil

menunjukkan bahwa *P. chrysosporium* mendegradasi 55% komponen organik dari batang kapas, sedangkan *P. ostreatus* hanya mendegradasi 20% komponen organik tersebut setelah diinkubasi selama 30 hari.

Sawada, dkk., (1995) melaporkan bahwa degradasi selulosa dari kayu *beech* (32–60 mesh) oleh *P. chrysosporium* mencapai maksimum (74,8%) setelah diinokulasi selama 28hari dan dihidrolisis dalam reaktor pada suhu uap 215°C dan waktu 6,5menit. Menurut Mishra dan Gary, (1990), *L. edodes* mendegradasi lignin sekitar 40-50% dengan aktivitas yang optimal pada pH 4,5-5,0 dan aktivitas spesifik 310 unit/mg protein pada 40°C. Gozan dan Samsuri, (2007), mengkonversi bagas tebu dengan menggunakan *L. edodes* selama 4 minggu dan *P. ostreatus* selama 6 minggu. Komposisi bagas tebu mengalami penurunan kadar lignin sebesar 9,9% , holoselulosa 7,8% dan α -selulosa sebesar 6,1%.

Hal ini menunjukkan bahwa jamur lebih cenderung untuk menguraikan lignin dibandingkan dengan hemiselulosa maupun selulosa. Widjaya, mempelajari biodelignifikasi kayu sengon dan kayu pinus dengan menggunakan jamur pelapuk putih *P. chrysosporium*. Dalam kerjanya, *enzim peroksidase* terlebih dahulu dioksidasi oleh H_2O_2 , yang juga dihasilkan oleh jamur, untuk membentuk suatu zat antara. Zat ini selanjutnya direduksi oleh sebuah elektron dan membentuk zat kedua yang bersifat radikal. Selanjutnya zat kedua mengoksidasi substrat berikutnya dengan satu elektron sehingga siklus katalitik tersebut lengkap. Senyawa veratril alkohol merupakan metabolit sekunder yang juga dihasilkan oleh jamur. Ditemukan bahwa beberapa substrat tertentu yang tidak dapat dioksidasi oleh *lignin peroksidase* akan teroksidasi jika di dalam campuran inkubasi terdapat veratril alkohol. Dikatakan bahwa H_2O_2 dan veratril alkohol merupakan mediator dalam proses biodelignifikasi ini.

2.3 Pembuatan bioetanol

Bioetanol merupakan BBN alternatif yang dapat dikembangkan (Badger, 2002) karena memiliki beberapa sifat penting misalnya *octane booster* (135), *oxygenating agent*, *fuel extender* artinya dapat menaikkan nilai oktan bahan bakar dengan tidak mempengaruhi kinerja mesin, ramah lingkungan karena

kandungan oksigennya tinggi (35%) sehingga terjadi reaksi pembakaran yang sempurna (Prihandana, 2007), dapat mengurangi partikulat dan emisi gas buang (NO_x , CO_x) dari proses pembakaran.

Bioetanol dapat meningkatkan efisiensi pembakaran (Hambali, dkk., 2007) tanpa merubah konstruksi mesin bensin, bahan ini dapat menggantikan MTBE (metil tersier butil eter) atau TEL (tetra etil lead) yang kurang aman terhadap lingkungan. Selanjutnya bioetanol dapat dicampurkan ke dalam bensin dengan campuran 10% bioetanol dan 90% bensin yang biasa disebut gasohol (E10). Sampai saat ini, penggunaan bioetanol hanya diperbolehkan maksimum 10 %v (SK. Dirjen Minyak dan Gas Bumi, 2006).

Bioetanol merupakan etanol yang diperoleh melalui proses fermentasi biomassa dengan bantuan mikroorganisme. Bioetanol yang mengandung 35% oksigen dapat meningkatkan efisiensi pembakaran dan mengurangi emisi gas buang. Produksi bioetanol dengan bahan baku tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, dilakukan melalui proses konversi karbohidrat menjadi glukosa. Glukosa dapat dibuat dari pati-patian, proses pembuatannya dapat dibedakan berdasarkan zat pembantu yang dipergunakan, yaitu hidrolisa asam dan hidrolisa enzim. Berdasarkan kedua jenis hidrolisa tersebut, saat ini hidrolisa enzim lebih banyak dikembangkan, sedangkan hidrolisa asam (misalnya dengan asam sulfat) kurang dapat berkembang, sehingga proses pembuatan glukosa dari pati-patian sekarang ini dipergunakan dengan hidrolisa enzim. Dalam proses konversi karbohidrat menjadi glukosa dilakukan dengan penambahan air dan enzim, kemudian dilakukan proses peragian atau fermentasi gula menjadi bioetanol dengan menambahkan *yeast* atau ragi.

2.4 Bakteri *Zymomonas mobilis*

Bakteri *Z. mobilis* merupakan mikroorganisme potensial untuk memproduksi bioetanol dengan rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan ragi (*S. cereviceae*) dan lebih toleran terhadap lingkungan berkadar alkohol tinggi dan pH asam. Di samping memproduksi etanol, *Z. mobilis* juga memproduksi bakteriosin yaitu zat/bahan anti mikroba (protein) yang dihasilkan oleh bakteri

yang pada umumnya dapat menghambat pertumbuhan spesies lain yang berkerabat dekat. Meski begitu *Z. mobilis* mempunyai kelemahan antara lain tidak sanggup mengubah polimer karbohidrat kompleks seperti selulosa, hemiselulosa dan pati menjadi etanol, menghasilkan produk samping meliputi asam asetat, gliserol, aseton dan sorbitol. Sebagai bakteri potensial, *Z. mobilis* memang dikenal mampu membentuk alkohol dua kali lebih cepat dibandingkan dengan ragi. Tapi betapapun untuk mencapai efisiensi produksi etanol tentu harus didukung substrat (nutrisi untuk bakteri) yang murah dan mudah diperoleh untuk proses fermentasi.

BAB III. **Tujuan dan Manfaat Penelitian**

3.1 Secara khusus penelitian ini bertujuan, antara lain :

1. Menentukan variasi jamur pelapuk putih (*P. chrysosporium*, *L.edodes* dan *P. ostreatus*) pada proses delignifikasi tongkol jagung yang maksimal.
2. Menentukan variasi dari kombinasi mikroba *A. niger* dan *T. reesei* serta variasi kombinasi mikroba *Z. mobilis*, dan *S. cerevisiae* pada proses SSF untuk menghasilkan etanol yang maksimal
3. Menentukan kondisi optimal membran pervaporasi dari kitosan pada proses pemurnian bioetanol
4. Menentukan pengaruh emisi gas buang biopremiun (E-10) yang dihasilkan.

3.2 Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini, dapat mengdegradasi lignin pada tongkol jagung dengan campuran jamur pelapuk putih (*P. chrysosporium*, *L. edodes* dan *P. ostreatus*) yang diharapkan dapat menanggulangi permasalahan limbah pada tanaman jagung dan mengurangi polusi udara karena para petani jagung hanya membakar tongkol jagung, yang menyebabkan meningkatnya kadar CO₂ diudara dan menyebabkan polusi udara meningkat. Sementara kandungan holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa) pada tongkol jagung belum dapat dimanfaatkan secara maksimal karena memiliki ikatan lignin yang sangat kuat sehingga kandungan holoselulosa tidak dapat dikonversi untuk memperoleh glukosa dari selulosa selanjutnya difermentasi menjadi bioetanol sebagai bahan bakar alternatif terbarukan.

BAB IV.

METODE PENELITIAN

Beberapa tahapan-tahapan proses yang dibutuhkan untuk memanfaatkan tongkol jagung sebagai bahan baku pada produksi bioetanol antara lain : proses delignifikasi dengan kombinasi jamur pelapuk putih (*P. chrysosporium*, *L. edodes* dan *P. ostreatus*), proses hidrolisis dengan mencari variasi dari kombinasi mikroba *A. niger* dan *T. reesei* serta variasi kombinasi mikroba *Z. mobilis*, dan *S. cerevisiae* pada proses SSF untuk menghasilkan etanol yang maksimal. Tahap berikutnya merupakan proses pemurnian bioetanol dengan menggunakan membran pervaporasi dari kitosan sebagai bahan campuran premium (E-10) dan diuji coba ke mesin untuk menentukan pengaruh emisi gas buang biopremium yang dihasilkan.

4.1 Penyiapan Peralatan

Peralatan yang dipakai adalah peralatan gelas, neraca analitik, *crusher*, inkubator, peralatan destilasi fraksinasi, refraktometer, termometer, *water bath*, pH meter, kertas pH, aluminium foil, fermentor, otoklaf, *shaker* inkubator, pompa vakum, peralatan inokulasi, GC Shimadzu 2010, dan alat uji emisi bahan bakar.

4.2 B a h a n

Bahan-bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah : Tongkol jagung, Jamur pelapuk putih (*P. chrysosporium*, *L. edodes* dan *P. ostreatus*), *A. niger* dan *T. reesei*, *Z. mobilis* dan *S. cerevisiae*, NaOH, H₂SO₄, HCl, (NH₄)₂SO₄, K₂HPO₄, KH₂P0₄, MgSO₄.7H₂0, MnSO₄, NaCl, CaCl₂ anhidrat, FeSO₄.7H₂0, Co(NO₃)₂.6H₂0, H₂O₂ 30%, glukosa, ekstrak ragi, Bioetanol absolute, ekstrak toge, aseton, kitosan, glutaraldehid, alumina, silika dan air suling.

4.3 Prosedur Kerja

Untuk menyelesaikan masalah dilakukan beberapa tahapan-tahapan proses yang meliputi: proses perlakuan pendahuluan dengan menggunakan campuran jamur pelapuk putih, proses sakarifikasi dan proses fermentasi secara serempak (SSF) dengan kombinasi mikroba *A. niger* dan *T. reesei* serta variasi kombinasi

mikroba *Z. mobilis* dan *S. cerevisiae*, selanjutnya proses pemurnian dengan metode distilasi dan membran pervaporasi dari kitosan.

1. Perlakuan awal (pratreatment)

Tongkol jagung di potong kecil-kecil dengan ukuran 1 – 2 cm, dijemur di bawah sinar matahari hingga kadar airnya kurang dari 10% kemudian digiling dengan digerus hingga halus dan diayak dengan ukuran ayakan 40 mesh.

2. Proses delignifikasi

Perlakuan pendahuluan bertujuan untuk memecah ikatan antara lignin dan holoselulosa, karena tanpa perlakuan pendahuluan menyebabkan enzim selulase tidak dapat mengikat selulosa sehingga proses hidrolisis selulosa pada biomassa terhambat.

a. Penyiapan media untuk penentuan kondisi optimum

Stok kultur murni *P. chrysosporium*, *L. edodes*, *P. ostreatus*, *A. niger*, *T. reesei*, dan *S. cerevisiae* diperoleh dari PAU-ITB Bandung. *Z. mobilis* diperoleh dari Lab. Biokimia FTI-ITS Surabaya.

b. Peremajaan semua mikroba pada media agar miring

Media agar miring dibuat untuk meremajakan semua mikroba yang akan digunakan pada percobaan ini. Komposisi media agar miring dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi bahan untuk media agar miring

Bahan	Jumlah (g)
Glukosa	2.0
Bakto Agar	1.5
Toge	10

Bahan-bahan pada Tabel 1. dicampur dengan 100 mL akuades dan dididihkan selama 20 menit sambil diaduk hingga larut. Selanjutnya campuran disaring dan 10 mL larutan ekstrak toge dipipet dan dimasukkan ke dalam tiap tabung reaksi, disumbat dengan kapas dan aluminium foil. Campuran disterilisasi pada 121 °C selama 15 menit lalu didinginkan dalam keadaan miring (media agar miring). Biakan murni mikroba digoreskan secara zig-zag pada media agar miring

dengan menggunakan ose. Pengerjaan ini dilakukan dalam lemari steril (*ent case*) lalu ditumbuhkan dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 7 hari.

c. Pembuatan media inokulum

Komposisi media inokulum dapat dilihat pada Tabel 2. Sebagai berikut :

Tabel 2. Komposisi bahan untuk media inokulum

Bahan	Jumlah (g)
KH ₂ PO ₄	7.2
MgSO ₄ . 7H ₂ O	1.5
Glukosa	22.5
CaCl ₂ . H ₂ O	0.3
FeCl ₃ . 6H ₂ O	0.045
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.023
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.015
MnSO ₄ . H ₂ O	0.03
akuades	150 mL

d. Pembuatan suspensi jamur

Spora jamur pelapuk putih (*P. chrysosporium*, *L. edodes* dan *P. ostreatus*) dari media agar miring dengan menggunakan ose, dilarutkan dalam 20 mL larutan Tween 0,01% dalam labu ukur 50 mL dan selanjutnya diencerkan sampai tanda batas.

e. Pembuatan media delignifikasi dengan substrat tongkol jagung

Serbuk tongkol jagung yang lolos 40 mesh sebanyak 10g dimasukkan ke dalam elemeyer 250 mL ditambahkan 0,01 g glukosa dan diaduk sampai rata. Media inokulum dimasukkan ke dalam campuran sebanyak 15 mL dan disterilisasi dalam autoklaf pada 121°C selama 15 menit lalu didinginkan. Media suspensi jamur sebanyak 5mL dimasukkan ke dalam campuran steril, ditutup dengan kapas dan aluminium foil lalu dinkubasi dalam inkubator pada suhu kamar selama 30 hari dan setiap 5 hari dianalisa kadar lignin, hemiselulosa dan selulosa.

4.4 Proses sakarifikasi dan fermentasi secara serempak (SSF)

Tujuh erlemeyer 250 mL disiapkan, ke dalam erlemeyer dimasukkan 10g serbuk tongkol jagung dari hasil delignifikasi ditambahkan bahan-bahan pada Tabel 3. dan diaduk hingga larut. pH larutan diatur dengan buffer fospat hingga 5

lalu tiap erlenmeyer, disumbat dengan kapas dan aluminium foil dan disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C.

Komposisi bahan untuk media sakarifikasi dan fermentasi diberikan pada Tabel 3 sebagai berikut :

Tabel 3. Komposisi bahan untuk media sakarifikasi dan fermentasi

Bahan	Jumlah(g)
KH ₂ PO ₄	0.2
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,2
CaCl ₂ . 6H ₂ O	0.2
Na ₂ HPO ₄	0.4
CaCl ₂	0.2
NaCl	0.2
Ekstrak ragi	0.5
Glukosa	22.5
Akuades	100 mL

Erlenmeyer dipindahkan ke dalam ruang steril lalu 10 mL media inokulum (Variasi mikroba pada Tabel. 2) dimasukkan ke dalam setiap erlenmeyer dengan menggunakan gelas ukur yang steril. Erlenmeyer ditutup kembali dengan kapas lalu difermentasi selama 2, 4, 6, 8, 10, 11 dan 12 hari pada suhu 30 °C. Setelah 2 hari salah satu erlenmeyer pada media fermentasi diambil, disaring lalu didistilasi pada suhu 100 °C hingga diperoleh volume destilat 10 mL.

4.5 roses pemurnian bioetanol dengan menggunakan membran pervaporasi

Bioetanol yang telah diperoleh dimurnikan dengan menggunakan metode distilasi dan membran pervaporasi dari kitosan untuk mendapatkan bioetanol murni.

a. Pembuatan larutan cetak membran

Aseton dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan kitosan yang telah dibuat secara perlahan sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu alumina ditambahkan ke dalam larutan secara perlahan. Larutan yang telah dibuat diaduk selama satu hari kemudian dimasukkan ke dalam lemari pendingin dan didiamkan selama satu hari.

b. Pencetakan membran

Pencetakan membran dilakukan pada pelat kaca yang ujungnya diberi selotip dengan ketebalan yang seragam. Pencetakan dilakukan dengan batang pengaduk yang terlebih dahulu dibersihkan dengan alkohol. Setelah pencetakan, kemudian membran direndam pada bak yang berisi akuades. Kemudian membran dicuci dengan air yang mengalir hingga sisa pelarutnya hilang. Setelah itu membran dipanaskan pada suhu 50 °C sampai berat tetap dan disimpan dalam desikator.

c. Proses pervaporasi membran

Lembaran membran dipotong melingkar dengan diameter 4 cm kemudian diukur ketebalannya menggunakan mikrometer. Setelah itu, membran diletakkan pada pendukung secara horizontal dan pasang *cooling trap* kosong yang sebelumnya telah ditimbang, dipasang pada rancangan alat pervaporasi yang telah dirangkai. Bioetanol sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam labu leher tiga dan dipanaskan sampai 40°C. Proses pervaporasi dilakukan pada tekanan vakum dan suhu larutan umpan sebesar 40°C. Setelah satu kali putaran, sampel yang dihasilkan diambil hingga putaran ke-4. Sampel yang diperoleh kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan GC dan komponen pada membran dianalisis dengan FTIR.

4.6 Analisis lignin, hemiselulosa dan selulosa

Analisis selulosa dan lignin dilakukan dengan metode *Chesson* (Datta, 1981). Sebanyak 1 g (a) sampel kering ditambahkan 150mL akuades, dipanaskan pada suhu 90 - 100 °C dengan water bath selama 1 jam. Hasilnya disaring, residu dicuci dengan air panas (300 mL). Residu kemudian dikeringkan dengan oven sampai konstan kemudian ditimbang (b). Residu ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 1N kemudian dipanaskan dalam water bath selama 1 jam pada suhu 90 - 100 °C. Hasilnya disaring dan dicuci dengan akuades sampai netral (300 mL) lalu dikeringkan (c). Residu kering ditambahkan 10 mL H₂SO₄ 72% dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam. Ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 1 N dan direfluks pada *water bath* selama 1 jam pada pendingin balik. Residu disaring dan dicuci

dengan akuades sampai netral (400 mL) kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C dan hasilnya ditimbang sampai bobot tetap (d), selanjutnya residu diabukan dan ditimbang (e). Perhitungan kadar selulosa dan kadar lignin sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Kadar selulosa} &= \frac{c-d}{a} \times 100\% \dots\dots\dots (1) \\ \text{Kadar lignin} &= \frac{d-e}{a} \times 100\% \dots\dots\dots (2) \end{aligned}$$

dimana : a = berat sampel (gram)
 c = berat residu pada penimbangan ketiga (gram)
 d = berat residu pada penimbangan keempat (gram)
 e = berat abu (gram)

4.7 Analisis kadar bioetanol dengan kromatografi gas

Konsentrasi bioetanol ditentukan dengan metode kromatografi gas jenis SUPEL COWAX-10 (Supelco Inc., 0,53 mm i.d., 15 m, 0,5 mm, FID) pada temperatur 50°C. Sebelum sampel diinjeksi ke dalam GC terlebih dahulu mengukur larutan standar yang akan digunakan sebagai dasar perhitungan konsentrasi bioetanol.

4.8 Uji emisi premium E-10

Emisi gas buang yang dihasilkan (CO, CO₂, O₂ dan HC) dengan menggunakan bahan bakar premium yang akan dibandingkan dengan menggunakan bahan bakar biopremium E-10. Emisi gas buang yang diamati: karbon monoksida (CO), karbon dioksida (CO₂), oksigen (O₂) dan hidrokarbon (HC).

BAB V. **Hasil dan Pembahasan**

5.1 Biodelignifikasi tongkol jagung dengan jamur pelapuk putih

Komposisi tongkol jagung awal terdiri atas selulosa 40%, hemiselulosa 36%, lignin 16% dan lain-lainnya berkisar 8%. Ketiga komponen tersebut saling terikat kuat karena adanya struktur amorf dan ikatan 1,4 –glukosida pada selulosa serta adanya lignin diantara rantai selulosa sehingga diperlukan proses pretreatment pada tongkol jagung untuk memecah ikatan dan menghilangkan kandungan lignin.

Proses delignifikasi tongkol jagung memanfaatkan 3 spesies jamur pelapuk putih (*P. chrysosporium*, *P. ostreatus*, dan *P. ostreatus*) karena setiap jamur dapat memproduksi enzim yang berbeda tetapi saling bersinergis untuk mendegradasi lignin dengan kehilangan selulosa yang kecil.

a. Delignifikasi tongkol jagung dengan inokulum tunggal dari jamur pelapuk putih

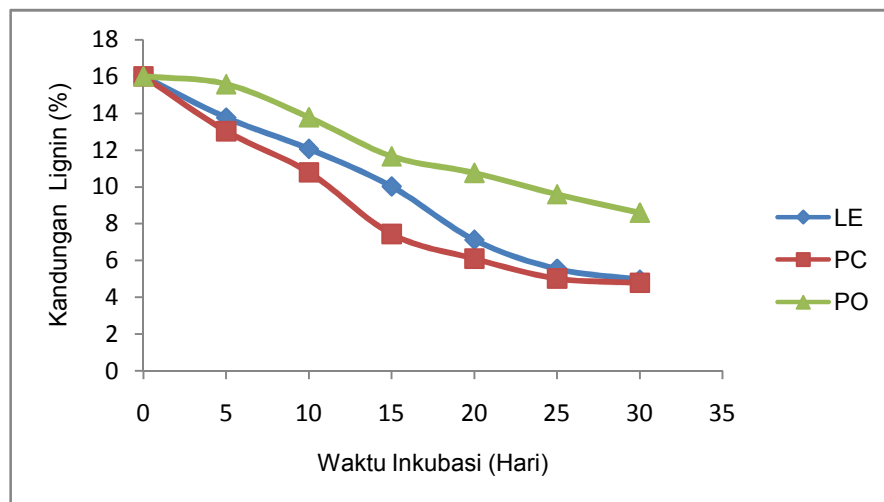
Setiap jenis jamur memiliki kemampuan degradasi lignin yang berbeda berdasarkan enzim yang diproduksi. Hasil delignifikasi tongkol jagung ditunjukkan pada Tabel 4. yaitu waktu inkubasi hari ke-5 dari jamur *L. edodes* memiliki kemampuan mendegradasi lignin 5,3 kali lebih besar dari jamur *P. ostreatus* sementara jamur *P. chrysosporium* memiliki kemampuan 7 kali lebih besar dari jamur *P. ostreatus*. Jamur *P. chrysosporium* mulai memproduksi enzim LiP setelah waktu inkubasi 10 sampai 15 hari, terjadi penurunan lignin tertinggi yaitu 31,05 % dibandingkan jamur yang lain.

Tabel 4. Hubungan kandungan lignin dan selulosa (%) pada tongkol jagung terhadap waktu inkubasi jamur pelapuk putih

Waktu inkubasi (Hari)	Kandungan Lignin dan Selulosa (%)					
	LE		PC		PO	
	Lignin	Selulosa	Lignin	Selulosa	Lignin	Selulosa
0	16	40	16	40	16	40
5	13,76	31,90	13,02	36,00	15,58	35,98
10	12,06	29,84	10,79	33,99	13,78	33,62
15	10,02	26,84	7,44	22,64	11,66	30,32
20	7,12	13,86	6,10	17,30	10,76	28,02
25	5,54	12,30	5,02	15,06	9,60	27,58
30	4,96	10,28	2,77	11,32	8,60	27,30

Keterangan: LE= *L. edodes*, PC = *P. chrysosporium*, PO = *P. ostreatus*

Pada Gambar 1. menunjukkan kandungan lignin pada waktu inkubasi hari ke- 30 yang menggunakan jamur *P. chrysosporium* yang paling kecil dibanding kedua jamur tersebut. Jamur *L. edodes* lebih kecil dibanding *P. ostreatus* yaitu 2,77 %; 4,96 %; 8,6% .



Gambar 1. Persentase kandungan lignin terhadap waktu inkubasi dengan penggunaan inokulum tunggal dari jamur pelapuk putih

Kandungan lignin yang terdegradasi oleh enzim LiP melalui proses oksidatif non-spesifik akan membentuk turunan senyawa fenol yang dapat

menghambat aktivitas LiP (Castillo, 1997), bersifat racun dan menghambat proses fermentasi selanjutnya (Palmqvist dan Hahn-Hazgerdal, 2000). Kondisi tersebut, terlindungi oleh terbentuknya enzim Lac yang berperan sebagai pelindung terhadap senyawa fenol (Cavallazzi, 2005).

Tingkat degradasi kandungan lignin tongkol jagung menggunakan inokulum tunggal jamur pelapuk putih dengan waktu inkubasi sampai 30 hari dengan variasi analisa kandungan lignin setiap 5 hari yang ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Persentase kehilangan kandungan lignin dan selulosa (%) dari tongkol jagung terhadap waktu inkubasi jamur pelapuk putih

Waktu Inkubasi (hari)	Persentase Kehilangan Lignin dan Selulosa (%)					
	LE		PC		PO	
	Lignin	Selulosa	Lignin	Selulosa	Lignin	Selulosa
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	14,00	20,25	18,62	10,00	2,64	10,05
10	24,62	25,40	32,54	15,03	13,87	15,95
15	37,38	32,90	53,50	43,40	27,13	24,20
20	55,50	65,35	61,88	56,75	32,72	29,95
25	65,38	69,25	68,63	62,35	40,02	31,05
30	69,00	74,30	82,71	72,94	46,25	36,05

Jamur *P. chrysosporium* memiliki kemampuan mendegradasi lignin (Johjima, 1999), lebih tinggi daripada *P. ostreatus* yaitu 53,50%; 27,13% dan tumbuh lebih cepat daripada *P. ostreatus* pada waktu inkubasi ke 15 hari. Hasil penelitian tersebut, tidak jauh berbeda dari hasil penelitian Kerem, dkk. (1992) yang menggunakan jamur *P. chrysosporium* dan *P. ostreatus* pada batang kapas dimana terjadi kehilangan lignin yang mencapai 55% dan 20% dengan waktu inkubasi yang sama. Hasil tersebut, sedikit berbeda karena adanya bahan baku yang digunakan memiliki kandungan lignin dan selulosa berbeda.

Setelah pratreatment sampai hari ke- 30 pada Tabel 5. menunjukkan adanya perubahan tingkat degradasi lignin pada inokulum tunggal adalah: *P. ostreatus*, *P. chrysosporium* dan *L. edodes* adalah 46,25%; 82,71% dan 69% dan hasil penelitian tersebut, sesuai dengan penelitian Mishra dan Gary, (1990) yang

menggunakan *L. edodes* pada proses degradasi lignin sekitar 40 - 50%. Sementara kehilangan lignin pada batang jagung yang menggunakan jamur *P. chrysosporium* menurut Fadilah dkk. (2008) mencapai 81,4% dengan waktu inkubasi selama 30 hari. Kandungan lignin yang terdegradasi oleh enzim LiP melalui proses oksidatif non-spesifik akan membentuk turunan senyawa fenol yang dapat menghambat aktivitas LiP (Castillo, 1997), bersifat racun dan menghambat proses fermentasi selanjutnya (Palmqvist dan Hahn-Hazgerdal, 2000). Kondisi tersebut, terlindungi oleh terbentuknya enzim Lac yang berperan sebagai pelindung terhadap senyawa fenol (Cavallazzi, 2005).

Selulosa dan lignin sering terdegradasi secara bersamaan, yang relatif tingkat degradasinya dapat bervariasi tergantung pada spesies jamur. Jamur *P. ostreatus* mempunyai daya delignifikasi yang selektif dibanding *P. chrysosporium* (Kerem, dkk. 1992) dan *L. edodes* karena kandungan selulosa pada hari inkubasi ke- 30 adalah 27,30%; 11,32%; 10,28% yang ditunjukkan pada Tabel 5. dan Gambar 2.

Hasil penelitian tersebut, tidak terlalu jauh berbeda dari tingkat degradasi selulosa pada jerami padi yang terjadi sebanyak 33 % dengan waktu inkubasi 36 hari (Taniguchi dkk. 2010). Sebenarnya yang diinginkan adalah terurainya lignin, tetapi ternyata selulosa juga mengalami degradasi, hal ini disebabkan pada proses inkubasi jamur *P. chrysosporium* menghasilkan enzim selulase, enzim protease, polifenol oksidase (Sun dan Cheng, 2002), Cellobiose kuinon oksidoreduktase (CBQ) dan dehidrogenase selobiosa (CDH) (Castillo, 1997), xilanase dan hemiselulase (Hatakka 1994, 2001), enzim tersebut dapat menguraikan selulosa pada tongkol jagung seperti pada Tabel 6.

Hasil ini juga menunjukkan jamur *L. edodes* mempunyai kemampuan selektivitas yang tidak terlalu besar, karena cukup banyak selulosa yang terdegradasi. Selain itu, persentase kehilangan kandungan selulosa meningkat terus pada setiap tahap perlakuan inkubasi (5 hari) sampai perlakuan 30 hari.

b. Delignifikasi tongkol jagung dengan inokulum campuran dari 2 spesies jamur pelapuk putih

Dari Tabel 5. menunjukkan hasil delignifikasi tongkol jagung memiliki kemampuan mendegradasi kandungan lignin yang berbeda, karena masing-masing jamur memproduksi enzim berbeda pada proses degradasi kandungan lignin dan proses degradasi lignin dibutuhkan beberapa jenis enzim. Berdasarkan hal tersebut, dilakukan variasi gabungan dari 2 jamur dengan waktu inkubasi yang sama yaitu inkubasi selama 30 hari dengan interval 5 hari.

Tabel 6. menunjukkan adanya penurunan kandungan lignin dengan waktu inkubasi hari yang ke- 5 pada LE – PO1; PC – PO1 dan LE – PC1 yaitu: 14,32%; 14,74% dan 15,42%, berarti setiap variasi yang tidak terdapat jamur *P. chrysosporium* memiliki kandungan lignin yang lebih kecil dibandingkan variasi yang lain.

Tabel 6. Persentase kandungan lignin dan selulosa (%) tongkol jagung terhadap waktu inkubasi pada campuran 2 spesies jamur pelapuk putih

Waktu inkubasi (Hari)	Kandungan Lignin (%)					
	LE – PO		LE – PC		PC – PO	
	Lignin	Selulosa	Lignin	Selulosa	Lignin	Selulosa
0	16	40	16	40	16	40
5	14,32	38,72	15,42	35,40	14,74	38,20
10	13,28	35,12	14,30	33,00	10,92	36,28
15	12,74	33,00	13,62	29,72	8,28	33,96
20	10,18	31,26	9,10	27,32	6,28	29,76
25	8,16	30,30	5,34	26,34	4,30	27,56
30	7,14	29,76	2,40	22,16	2,10	24,72

Keterangan : LE – PC = *L. edodes* – *P. chrysosporium*

LE – PO = *L. edodes* – *P. ostreatus*

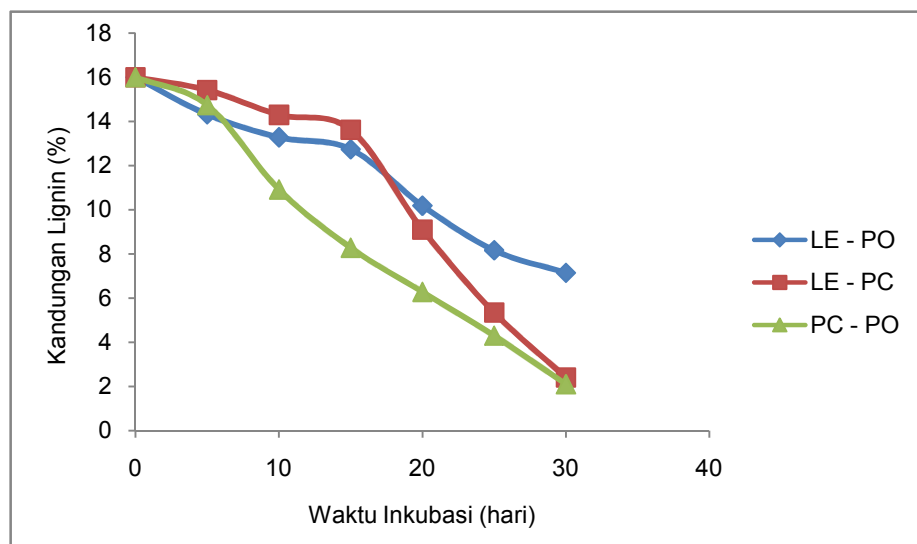
PC – PO = *P. chrysosporium* – *P. Ostreatus*

Jamur *P. chrysosporium* baru mulai tumbuh setelah 6 hari inkubasi sehingga pada hari inkubasi ke ke- 5, hifa dari jamur tersebut baru mulai kelihatan dan sesuai dengan penelitian Aisah, 2009. Pada Gambar 2.

menunjukkan bahwa variasi jamur LE – PO mengalami penurunan lignin lebih lambat setelah waktu inkubasi hari ke-20 yaitu 10,18 % karena permukaan substrak LE – PO4 mulai terjadi pengerasan atau kering dan pada waktu inkubasi hari ke- 30 terjadi penurunan kandungan lignin mencapai 7,14 % yang lebih kecil 3 kali dari kombinasi jamur lainnya .

Sementara itu, penurunan kandungan lignin terus terjadi sampai waktu inkubasi hari ke- 30 terutama pada erlemenyer ke PC – PO6 dan LE – PC6 mencapai 2,10% dan 2,40%. Pada variasi PC – PO6 memiliki kandungan lignin terkecil dibandingkan variasi yang lain. Dari halaman 16 menunjukkan bahwa jamur *P. chrysosporium* menghasilkan enzim yaitu LiP dan MnP (Howard dkk. 2003).

Selanjutnya jamur *P. ostreatus* menghasilkan enzim yaitu Lac, VP (Dashtban dkk. 2010), MnP (Sarkar dkk. 1997) dan alkohol veratril oksidase (Palmieri dkk. 1997) sehingga produksi enzim yang dibutuhkan untuk mendegradasi lignin lebih banyak dan lebih lengkap. Oleh karena itu, kondisi tersebut sesuai dengan enzim yang berperan dalam proses delignifikasi adalah Lac, LiP dan MnP (Kirk dkk. 1988).



Gambar 2. Persentase kandungan lignin terhadap waktu inkubasi dengan penggunaan inokulum campuran 2 spesies jamur pelapuk putih

Pada Tabel 4. menunjukkan bahwa penurunan lignin pada kombinasi jamur LE – PO6, LE – PC6, dan PC – PO6 adalah 55.38%, 85,0% dan 86,87%. Pada kombinasi LE – PO terjadi penurunan kemampuan delignifikasi dari jamur *L. edodes* sebesar 13,62% tetapi jamur *P. ostreatus* memiliki kemampuan delignifikasi meningkat sebesar 9,13 % bila dibandingkan pada inokulum tunggal.

Pada variasi LE – PC dan PC – PO pada waktu inkubasi hari ke- 30 mencapai tingkat delignifikasi: 85% dan 86,87%, menunjukkan bahwa jamur *P. chrysosporium* dan *P. Ostreatus* dapat bekerja secara sinergis dan lebih efektif untuk mendegradasi lignin dari tongkol jagung.

Tabel 4. Persentase kehilangan kandungan lignin dan selulosa (%) dari tongkol jagung terhadap waktu inkubasi campuran 2 spesies jamur pelapuk putih

Waktu inkubasi (Hari)	Persentase Kehilangan Lignin dan Selulosa (%)					
	LE – PO		LE – PC		PC – PO	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	10,50	3,20	3,63	11,50	7,88	4,50
10	17,00	12,20	10,62	17,50	31,75	9,30
15	20,38	17,50	14,87	25,70	48,25	15,10
20	36,38	21,85	43,12	31,70	60,75	25,60
25	49,00	24,25	66,62	34,15	73,13	31,10
30	55,38	25,60	85,00	44,60	86,87	38,20

Degradasi tersebut lebih besar dibanding hasil penelitian oleh Fadilah dkk. (2008) mencapai 81,4% dengan waktu inkubasi selama 30 hari menggunakan jamur *P. chrysosporium*.

c. Delignifikasi tongkol jagung dengan inokulum campuran 3 spesies jamur pelapuk putih

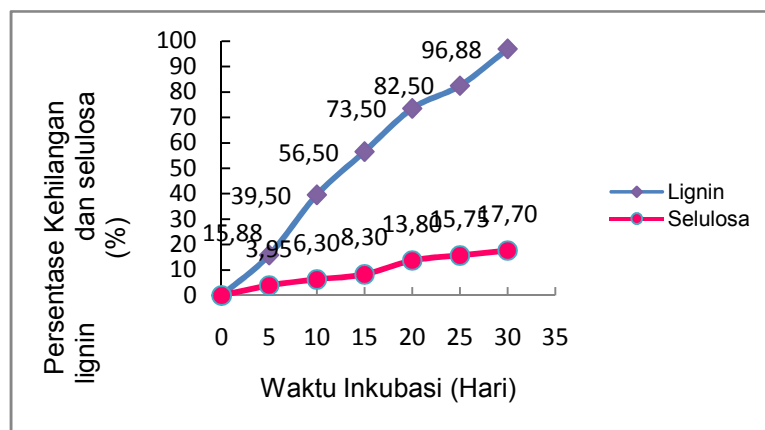
Dari Tabel 5. menunjukkan inokulum campuran 3 spesies jamur pelapuk putih mendegradasi kandungan lignin tongkol jagung secara maksimal, dimana kandungan selulosa tidak banyak yang hilang. Pada inokulum campuran dari 3 spesies jamur dengan waktu inkubasi hari ke- 30 kandungan lignin yang terendah

pada tongkol jagung yaitu 0,5 % dengan kehilangan kandungan selulosa yang tidak banyak 32,92 % dibandingkan dengan variasi inokulum yang lain, dimana persentase degradasi lignin mencapai 96,88 % dan persentase kehilangan selulosa hanya sebesar 17,70 % karena adanya enzim oksalat oksidase, oksalat dehidrogenase, yang diproduksi oleh jamur dapat mengoksidasi asam oksalat sehingga kandungan hemiselulosa dan selulosa juga ikut terdegradasi.

Tabel 5. Hubungan kandungan lignin dan selulosa (%) tongkol jagung terhadap waktu inkubasi dari campuran 3 spesies jamur pelapuk putih

Waktu inkubasi (Hari)	Komponen LE – PP – PO	Persentase Kandungan (%)	
		Lignin	Selulosa
0	Kontrol	16	40
5	LE – PP – PO 1	13,46	38,42
10	LE – PP – PO 2	9,68	37,48
15	LE – PP – PO 3	6,96	36,68
20	LE – PP – PO 4	4,24	34,48
25	LE – PP – PO 5	2,80	33,70
30	LE – PP – PO 6	0,50	32,92

Pencampuran ke 3 inokulum tersebut, dapat memproduksi enzim secara optimal dan bekerja secara sinergis untuk mendegradasi kandungan lignin tongkol jagung lebih maksimal karena struktur lignin tidak dapat dihilangkan sampai 100% disebabkan adanya ikatan antara lignin dengan selulosa yang belum diketahui secara lengkap (Steffen, 2003).

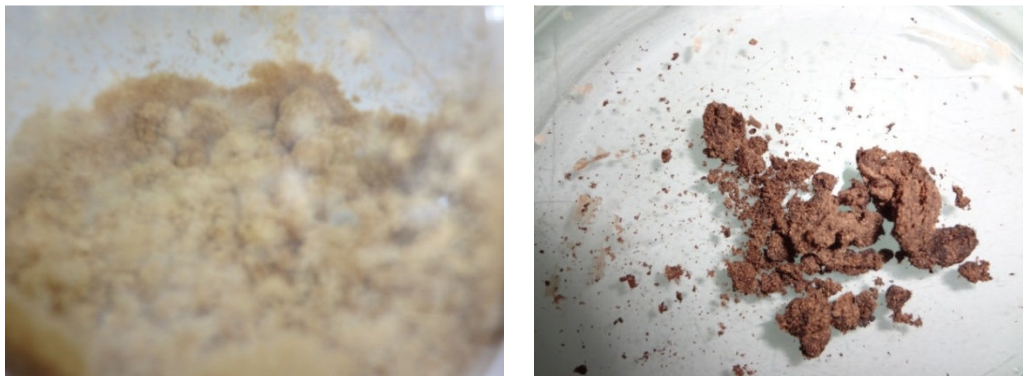


Gambar 3. Persentase kehilangan kandungan lignin dan selulosa terhadap waktu inkubasi dengan inokulum campuran 3 spesies jamur pelapuk putih

d. Proses delignifikasi yang terjadi beberapa enzim yang diproduksi jamur pelapuk putih

Selanjutnya enzim yang berfungsi pada proses ligninolisis adalah enzim LiP sebagai katalis utama dapat memecah unit non fenolik dan enzim MnP mengoksidasi Mn^{2+} menjadi Mn^{3+} yang berperan dalam pemutusan unit fenolik lignin.

Enzim Lac yang diproduksi oleh jamur *L. edodes* dapat mengoksidasi gugus fenol menjadi senyawa kuinon (Arora dan Sandhu, 1985) dan menimbulkan warna coklat atau kehitam – hitaman pada serbuk tongkol jagung seperti pada Gambar 4.



a). Sebelum delignifikasi

b). Sesudah delignifikasi

Gambar 4. Hasil dari delignifikasi tongkol jagung dengan menggunakan inokulum campuran 3 spesies jamur pelapuk putih

Ishihara (1980) menyatakan bahwa Lac adalah enzim pengoksidasi melalui proses dimetilasi yang akan mengubah gugus metoksi menjadi methanol.

5.2 Proses Hidrolisis Selulosa dari Tongkol Jagung

Hasil delignifikasi tongkol jagung secara enzimatik yang menggunakan inokulum campuran 3 jamur pelapuk putih, dilanjutkan pada proses pembuatan bioetanol menggunakan metode SSF. Pada tahap ini, selulosa dari tongkol jagung

dikonversi menjadi glukosa secara maksimal dengan memanfaatkan enzim selulase yang dihasilkan oleh *A. niger* dan *T. reesei* atau campuran inkolum *A. niger* dan *T. reesei* pada perubahan pH awal substrak terhadap kandungan glukosa (%).

a. Pengaruh pH dan waktu hidrolisa terhadap kandungan glukosa dengan menggunakan *A. niger* atau *T. reesei*

Pada penelitian ini, hidrolisa selulosa tongkol jagung menjadi glukosa menggunakan *T. reesei* dan *A. niger* yang masing – masing dapat menghasilkan enzim selulase yang berbeda baik jenis dan jumlahnya sehingga memiliki efektifitas yang berbeda seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengaruh variasi mikroba terhadap kandungan glukosa (%) dengan menggunakan substrak tongkol jagung dari hasil delignifikasi campuran jamur pelapuk putih

No.	Jenis Inokulum	Kadar Glukosa (%)
1.	<i>T. reesei</i>	1.0955
2.	<i>A. Niger</i>	1.0017
3.	(<i>T. reesei</i> dan <i>A. Niger</i>)	1.3017

Tabel 6. menunjukkan adanya aktifitas campuran inokulum dari mikroba *T. reesei* dan *A.niger* dapat menghasilkan kandungan glukosa lebih besar dibanding inokulum tunggal dari *T. reesei* dan *A. niger* karena produksi enzim yang lebih lengkap yaitu endo- β -glukanase, dan ekso- β -glukanase dapat merombak selulosa menjadi selobiosa yang langsung dikonversi menjadi glukosa oleh β -glukosidase.

Campuran enzim selulase kasar dari *T. reesei* dan *A. niger* lebih efektif untuk menghidrolisa selulosa tongkol jagung menjadi glukosa dengan kadar glukosa mencapai 1,3017 %. Penelitian ini, sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Correa dkk. (1999), bahwa jumlah biomassa sel dan aktifitas enzim-enzim selulase lebih tinggi pada biakan campuran *T. reesei* dan *A. niger* dibanding kultur tunggal dengan menggunakan substrat dari bagas tebu.

T. reesei menghasilkan endo- β -glukanase dan ekso- β -glukanase dalam jumlah besar yang berfungsi memecahkan selulosa menjadi selobiosa sehingga tidak maksimal pembentukan glukosa dari tongkol jagung yang ditunjukkan dengan kadar glukosa sebesar 1,0955 %, sedangkan *A. niger* dapat memproduksi endo- β -glukanase dan β -glukosidase dalam jumlah besar sehingga pemecahan selobiosa oleh selulase tidak memadai dengan kadar glukosa sebesar 1,0017 %.

Hal ini menunjukkan bahwa penambahan enzim kasar dari *A. niger* keenzim kasar *T. reesei* dapat memperbaiki komposisi endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase menjadi lebih seimbang dan saling bersinergis untuk mendegradasi selulosa tongkol jagung menjadi glukosa, apabila dibandingkan dengan kultur tunggal.

b. Pengaruh pH dan waktu hidrolisa terhadap kandungan glukosa dengan menggunakan campuran *A. niger* dan *T. reesei*

Selanjutnya penelitian ini dilanjutkan berdasarkan data Tabel 6. dengan membuat variasi waktu hidrolisis terhadap tingkat keasaman (pH) untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa secara maksimal karena kinerja enzim yang dihasilkan oleh *T. reesei* dan *A. niger* dapat dipengaruhi oleh pH, dan waktu hidrolisa. Menurut Enari (1983) menyebutkan bahwa pH optimal untuk pertumbuhan *T. reesei* adalah sekitar 4 sedangkan pH optimal untuk produksi enzim selulase adalah pH 3 atau pH optimum 3,5 – 6,5 (Sunna dan Antranikian, 1997), sedangkan *A. niger* memiliki pH optimum sekitar 2 – 8 (Fardiaz, 1989) yang menjadikan dasar penentuan variasi pH pada kultur campuran untuk mendapatkan konsentrasi glukosa yang maksimal.

Pada Tabel 7. menunjukkan bahwa kandungan glukosa pada hari ke – 4 secara umum hampir sama yaitu sekitar 4 sampai 6 % karena mikroba masih mengalami fase adaptasi dengan kondisi lingkungan atau fase lag. Selama fase ini massa sel tidak mengalami penambahan jumlah sel dan kondisi mikroba yang terus mengalami penyesuaian diri terhadap lingkungan sampai mikroba mencapai pembelahan sel yang maksimal.

Tabel 7. Pengaruh perubahan pH awal substrat terhadap kandungan glukosa (%) dengan menggunakan campuran inokulum *T. reesei* dan *A. niger*

Waktu (Hari)	Kandungan Glukosa (%) Pada Variasi pH Substrat Sebelum Fermentasi			
	pH 3,5	pH 4	pH 4,5	pH 5
4	6,53	4,34	6,17	4,34
5	6,89	5,80	6,47	6,89
6	7,26	8,77	6,89	8,79
7	11,16	13,88	9,17	10,85
8	12,69	12,44	12,24	10,01
9	10,85	8,37	6,89	9,57

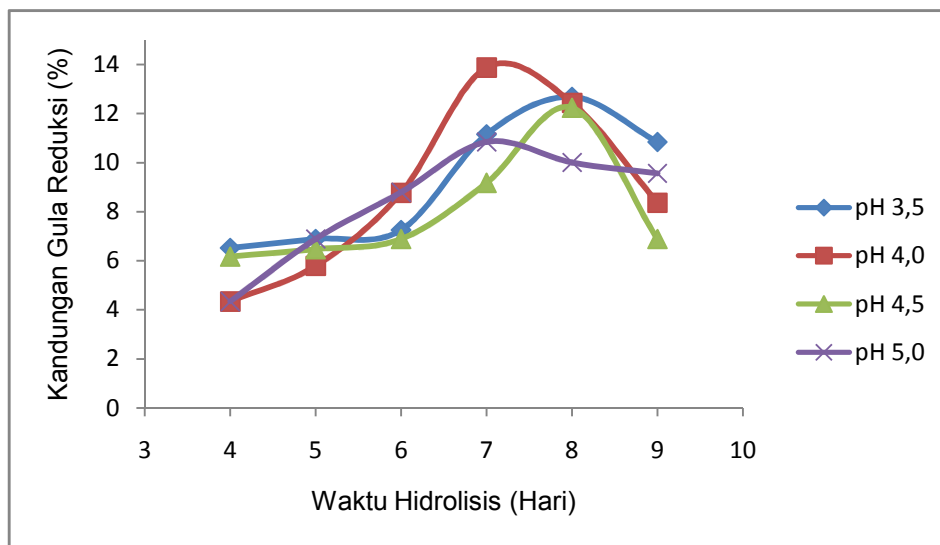
Fase ini disebut dengan fase adaptasi karena sel dari mikroba sedang beradaptasi terhadap media tumbuhnya. Lamanya fase lag tergantung pada umur inokulum yang dimasukkan. Sel-sel yang diinokulasikan pada awal fase lag akan mengalami waktu yang singkat.

Pada hari ke – 4 dengan pH awal 3,5 menunjukkan kandungan glukosa adalah 6,53 %, kondisi ini disebabkan adanya *T. reesei* yang lebih aktif dibandingkan *A. niger*. Hal ini disebabkan *T. reesei* dapat menghasilkan enzim selulase yang optimal pada kondisi keasaman 3,5 – 4 sedangkan *A. niger* menghasilkan enzim selulase yang optimal pada kondisi keasaman optimal adalah 4,5 – 5 (Pandey,2000).

Pada hari ke – 4 dengan pH awal 4,5 menunjukkan kandungan glukosa sebesar 6,17 %. Hal ini disebabkan, adanya pembentukan enzim selulase oleh *A. niger* yang lebih aktif dibandingkan *T. reesei* karena kondisi lingkungan lebih sesuai terhadap *A. niger*. Kemudian pada hari ke – 4 untuk pH awal 4 dan pH awal 5 menunjukkan kandungan glukosa yang sama yaitu 4,34 % .

Secara umum pada pH awal 3,5 menunjukkan *T. reesei* yang lebih aktif dibandingkan *A. niger*, sebaliknya pada kondisi pH awal 4,5 menunjukkan *A. niger* yang lebih aktif dibandingkan *T. reesei* dan selanjutnya pH awal 4 dan pH awal 5 pada hari ke – 4 sampai ke – 6 menunjukkan kandungan glukosa yang hampir sama sehingga kedua mikroba saling bersinergis dan tidak mencirikan adanya efektifitas mikroba tertentu yang ditunjukkan pada Gambar 5.

Pada Gambar 5. menunjukkan bahwa pada hari – 5 sampai hari ke – 7 terjadi peningkatan kandungan glukosa secara signifikan, pada hari – 7 untuk pH awal 4 dan pH awal 5 terjadi peningkatan konsentrasi glukosa tertinggi yaitu 13,88 % dan 10,85 %. Selanjutnya fase ini telah terjadi pembelahan sel hingga populasi yang maksimal yang disebut fase logaritma atau fase eksponensial yang ditandai dengan peningkatan populasi yang cepat.



Gambar 5. Pengaruh persentase kandungan glukosa tongkol jagung terhadap Waktu Hidrolisa (Hari) dan pH awal Substrat

Pada hari ke-8 dengan pH awal 3,5 dan pH awal 4,5 terjadi peningkatan kandungan glukosa tertinggi yaitu 12,69 % dan 12,24 %. pada fase ini disebut fase eksponensial karena terjadi akumulasi massa sel mencapai konsentrasi optimum tetapi membutuhkan waktu hidrolisa yang lebih lambat dibandingkan pada pH awal 4 dan pH awal 5.

5.3 Proses Fermentasi Bioetanol Dengan Metode SSF

Setelah diperoleh kondisi yang optimal pada proses hidrolisis selulosa tongkol jagung dengan menggunakan kultur campuran *T. reesei* dan *A. niger* yaitu pH 4 dengan waktu inkubasi 7 hari, maka penelitian ini, dilanjutkan ke

proses fermentasi dengan metode SSF menggunakan inokulum campuran berdasarkan kandungan glukosa yang maksimal.

Selanjutnya penelitian ini, dilakukan dengan menggunakan variasi waktu fermentasi terhadap tingkat keasaman (pH) untuk mengkonversi glukosa menjadi bioetanol secara maksimal. Adapun konsentrasi bioetanol (%) hasil fermentasi yang menggunakan metode SSF inokulum campuran yaitu *T. reesei*, *A. niger*, *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis* yang ditunjukkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Pengaruh perubahan pH awal substrat terhadap kandungan bioetanol (%) menggunakan metode SSF dengan campuran inokulum *T. reesei*, *A. niger*, *S. cerevisiae* dan *Z. Mobilis*

Waktu (Hari)	Konsentrasi bioetanol (%) setelah fermentasi pada variasi pH fermentasi			
	pH 3.5	pH 4	pH 4.5	pH 5
4	5,05	7,21	6,26	5,85
5	6,61	8,26	7,93	6,51
6	7,82	9,60	8,21	8,54
7	9,25	11,82	8,02	7,95
8	8,59	8,96	7,70	7,45
9	7,38	7,35	7,03	6,95

Dari Tabel 8. menunjukkan bahwa pada hari ke- 4 dengan pH awal 3,5 dan menghasilkan konsentrasi bioetanol yang hampir sama yaitu 5,05 % merupakan konsentrasi bioetanol yang paling rendah dan pada hari ke- 4 pH awal 5 menghasilkan konsentrasi bioetanol adalah 5,85%. Fase ini mikroba masih mengalami fase adaptasi dengan kondisi lingkungan atau fase lag. Pada hari ke- 4 proses fermentasi dengan pH awal 4 dan pH awal 4,5 telah diperoleh konsentrasi bioetanol yang lebih tinggi yaitu 7,21% dan 6,25% kondisi ini menunjukkan fase adaptasi yang lebih awal karena *S. cerevisiae* dapat tumbuh dengan optimal pada pH 4,0 – 4,5 (Fardiaz, 1992) sedangkan *Z. mobilis* tumbuh dengan optimal pada pH 4 – 7 (Rahmanto dan Ambarwati, 2011).

Kondisi pH awal 3,5 hari ke – 5 sampai hari ke – 7 menunjukkan bahwa konsentrasi bioetanol hasil fermentasi sebelum pemurnian yang menggunakan inokulum campuran terhadap perubahan keasaman (pH) fermentasi adalah 6,61 %

sampai 9,25 % untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 21. Kondisi ini disebut fase logaritmik atau eksponensial karena pembentukan bioetanol semakin meningkat disebabkan kinerja masing–masing mikroba yang saling bersinergis dalam mengkonversi selulosa menjadi glukosa oleh *T. reesei* dan *A. niger* .

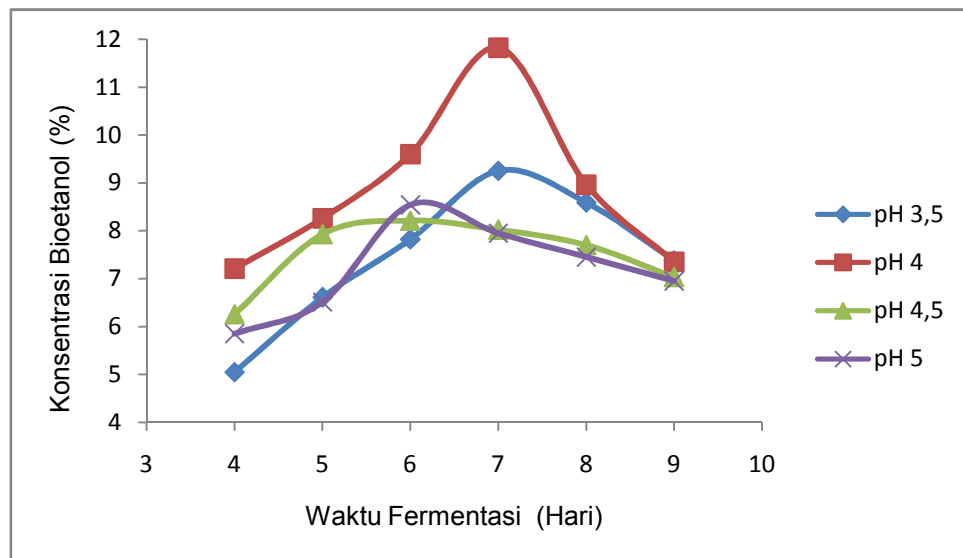
Data dari Tabel 7. menunjukkan kondisi pH awal 3,5 hari ke – 7 terdapat kandungan glukosa sebanyak 11,16 % yang dikonversi menjadi bioetanol sebanyak 9,25% secara serentak dalam substrak yang sama oleh mikroba *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis* . Adapun efisiensi produksi bioetanol dari glukosa sebesar 82,89% dan lebih besar dari efisiensi produksi *Z. mobilis* tunggal yaitu 50% (Purwoko Tjahjadi, 2009).

Selanjutnya proses fermentasi pH awal 3,5 hari ke – 8 dan hari ke – 9 terjadi penurunan konsentrasi bioetanol mencapai 8,59% dn 7,39% sehingga fase ini disebut fase penurunan, fase ini diawali oleh terhambatnya pembelahan sel dan jumlah nutrisi mulai menurun, pH semakin asam disebabkan terbentuknya reaksi samping misalnya asam asetat, asam levulinat dan asam formiat menyebabkan kondisi substrat semakin asam dan meningkatkan ion H^+ .

Menurut Frazier dan Westhoff (1978) bahwa kandungan glukosa antara 10 – 18% masih sesuai karena pada fermentasi pH awal 3,5 hari ke – 8 dan hari ke – 9 terdapat kandungan glukosa yang diproduksi oleh *T. reesei* dan *A. niger* adalah 12,69% dan 10,85% tetapi kandungan glukosa yang tinggi, serta terbentuknya bioetanol dan CO_2 dapat menghambat proses fermentasi dan menjadi inhibitor terhadap mikroba yang ada dikenal dengan *end-product inhibition* (Philippidis 1996 dalam Sun dan Cheng 2002).

Konsentrasi bioetanol pada pH awal 4 hari ke – 5 dan hari ke – 6 adalah 8,26% dan 9,60% terjadi fase logaritmik atau fase eksponensial yang lebih cepat karena pH awal 4 merupakan pH optimal dari *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis* untuk mengkonversi glukosa yang terbentuk menjadi bioetanol secara serempak. Pada pH awal 4 hari ke – 5 sampai hari ke – 7 diperoleh konsentrasi bioetanol yang semakin meningkat dan disebut fase eksponensial dan pH awal 4 hari ke – 7 menghasilkan bioetanol yang tertinggi yaitu 11,82%.

Data dari Tabel 7. menunjukkan kondisi pH awal 4 hari ke – 7 diperoleh kandungan glukosa maksimal sebanyak 13,88% dikonversi menjadi bioetanol sebanyak 11,82% secara serentak dalam substrak yang sama oleh mikroba *S. cerevisiae* dan *Z. mobilis* sehingga efisiensi produksi bioetanol dari glukosa mencapai 85,16% yang lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 6. Pengaruh persentase konsentrasi bioetanol (%) terhadap waktu fermentasi (Hari) dan pH awal substrat.

Selanjutnya fermentasi pada pH awal 4 hari ke – 7 dan hari ke – 8 terjadi penurunan konsentrasi bioetanol yaitu 8,96 % dan 7,35 % disebabkan oleh persediaan nutrisi yang telah berkurang, telah terbentuk kandungan glukosa yang tinggi. Apabila konsentrasi bioetanol yang diproduksi mencapai 12% akan menjadi inhibitor terhadap mikroba menyebabkan proses fermentasi mulai berhenti (Philippidis 1996 dalam Sun dan Cheng 2002).

Secara umum kondisi substrak pada pH awal 3,5 hari ke– 4 sampai pH awal 5 hari ke – 9 menunjukkan konsentrasi bioetanol yang diproduksi rata-rata adalah 7,763 % dan konsentrasi ini masih sesuai dengan standar yang mencapai kadar 6-10% (Indyah N, 2005).

5.4 Proses pemurnian bioetanol sebagai bahan bakar alternatif atau biofuel

Produk bioetanol hasil fermentasi hanya mencapai konsentrasi 11,82% sehingga perlu dilakukan suatu pemurnian dengan menggunakan metode destilasi.

a. Proses pemurnian dengan menggunakan metode destilasi

Proses pemurnian awal menggunakan metode destilasi sederhana dengan suhu yang dikontrol pada suhu 80 °C. Hasil destilasi yang dianalisis menggunakan kromatografi gas (GC 2010 Shimadzu). Hasil fermentasi sebanyak 1000 mL dimurnikan dengan alat destilasi sederhana dan diperoleh hasil destilat sebanyak 105 mL dengan konsentrasi 29,59%. Hasil ini masih belum optimal sebagai biofuel karena konsentrasinya masih kecil dan kandungan air yang masih tinggi dan campuran tersebut memiliki azeotrop pada titik didih 78 °C .

b. Pembuatan membran kitosan glutaraldehid pervaporasi pada proses pemurnian bioetanol

Pada membran kitosan glutaraldehid dianalisis dengan menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang ada. Hal ini ditandai dengan adanya pergeseran nilai pita serapan gugus fungsi pada bahan penyusun membran dan membran kitosan glutaraldehid sebelum mengabsorpsi kandungan air pada produk bioetanol.

c. Karakterisasi membran kitosan glutaraldehid dengan Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared)

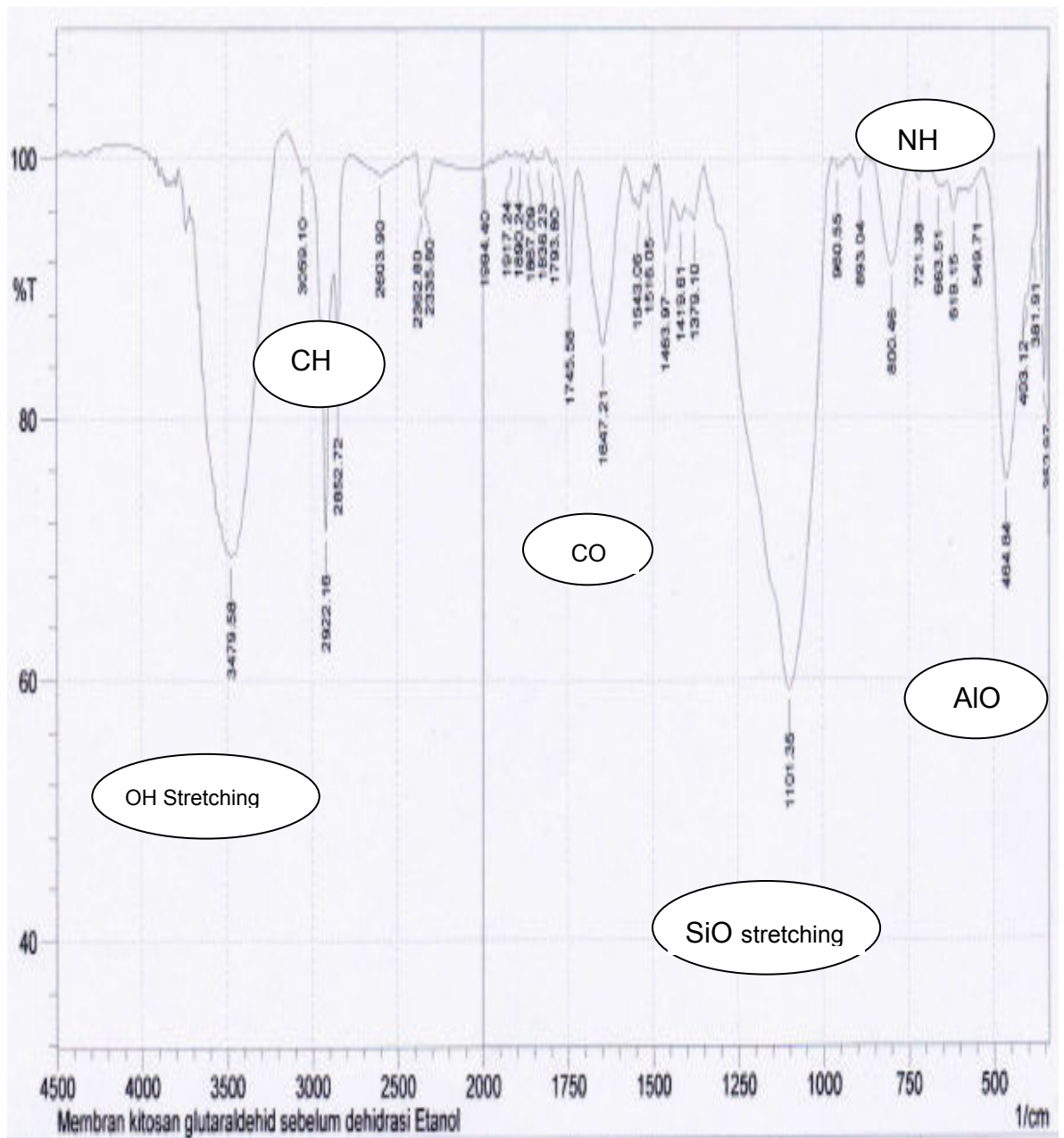
Spektrum FTIR pada Gambar 7. menunjukkan puncak serapan membran kitosan glutaraldehid yang muncul pada bilangan gelombang 3479 cm^{-1} –OH stretching. Puncak serapan pada bilangan gelombang 2922 cm^{-1} dan 2852 cm^{-1} masing-masing merupakan vibrasi CH_2 bending dan vibrasi CH_3 bending. Serapan pada bilangan gelombang 1647 cm^{-1} menunjukkan C=O (karbonil). Bilangan gelombang 1516 cm^{-1} yang merupakan serapan dari vibrasi NH bending. Bilangan gelombang 1379 cm^{-1} merupakan serapan dari vibrasi CN stretching

(Lambert, dkk. 2011). Bilangan gelombang 1101 cm^{-1} merupakan serapan dari vibrasi Si – O – Si (Pavia D.L dkk, 2009). Sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 800 cm^{-1} merupakan Si–O stretching dan Pita serapan pada bilangan gelombang 663 cm^{-1} merupakan vibrasi NH_2 dari amida primer dan 464 cm^{-1} merupakan akibat dari vibrasi Al – O.

Spektrum yang muncul dari membran yang ditunjukkan pada Gambar 7. menjelaskan bahwa telah terjadi beberapa puncak vibrasi yang hilang yaitu SiOH dengan bilangan gelombang 3543 cm^{-1} pada silika dan C–O Strecthing dengan bilangan gelombang 1153 cm^{-1} pada kitosan. Selanjutnya puncak serapan yang berasal dari kitosan dan glutaraldehid dengan bilangan gelombang yaitu 3479, 2922, 2852, 1647, cm^{-1} sedangkan bilangan gelombang 1516, 1379 , 663 cm^{-1} dari kitosan dan bilangan gelombang 1101, 800, 464 cm^{-1} dari silika dan alumina.

Tabel 9. Perbandingan spektra infra merah (FTIR) bahan penyusun membran dan membran kitosan glutaraldehid

Daerah Serapan (cm^{-1})	Gugus fungsi/ikatan	Bilangan gelombang (cm^{-1})				
		Kitosan	Glutaraldehid	Alumina	Silika	Membran
3700 – 3200	SiOH	-	-	-	3543	-
3550 – 3200	O – H Strecthing	3446	3446	3442	-	3479
2960 – 2870	CH_2	2916	2954	-	-	2922
2930 – 2850	CH_3	2873	2868	-	-	2852
1670 – 1640	C=O strecthing	1653	1645	-	-	1647
1550 – 1504	N–H Bending	1517	-	-	-	1516
1380 – 1250	CN Strecthing	1379	-	-	-	1379
1160 – 1080	C–O Strecthing	1153	-	-	-	-
1110 – 1000	Si – O – Si	-	-	1095	1060	1101
950 – 800	Si–H deformasi	-	-	823	800	800
903 – 665	NH_2	665	-	-	-	663
500 – 420	O–Si–O & O–Al–O	-	-	451	- 462	464



Gambar 7. Spektrum FTIR membran kitosan glutaraldehid

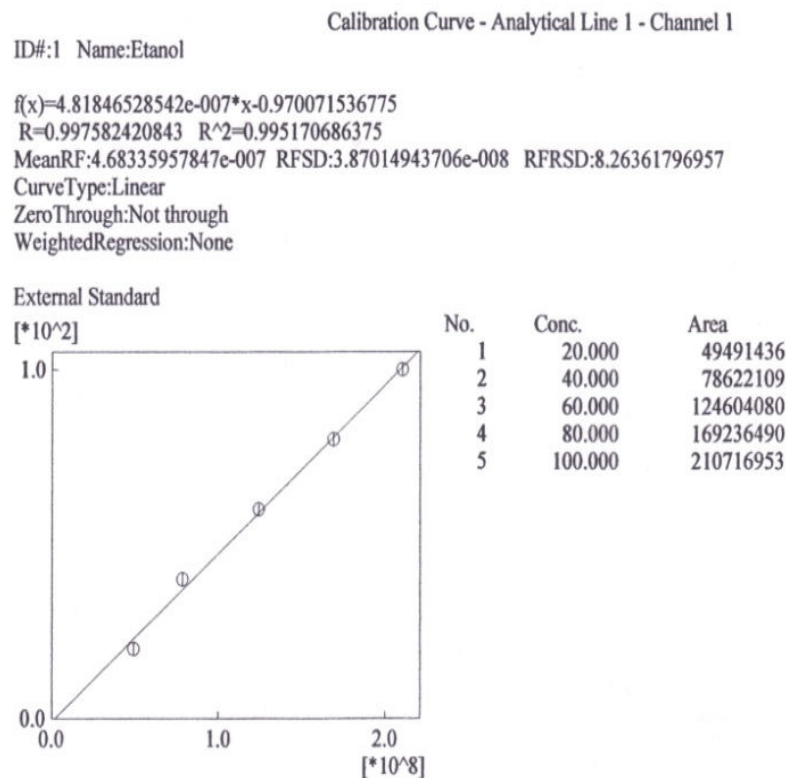
d. Hasil pemurnian bioetanol dengan menggunakan membran kitosan glutaraldehid

Penentuan konsentrasi bioetanol berdasarkan kurva standar yang telah dilakukan pada Tabel 10.

Tabel 10. Kurva standar bioetanol dengan standar internal pentana

No.	Komponen	Area	Konsentrasi (%)
1	Destilasi absolut 20 %	49491436	20
2	Destilasi absolut 40 %	78622109	40
3	Destilasi absolut 60 %	124604080	60
4	Destilasi absolut 80 %	169236490	80
5	Destilasi absolut 100 %	210716953	100

Dari Tabel 10. diperoleh suatu persamaan regresi, $y = 4,8e^{-0,07}x - 0,97$ dengan nilai $R = 0,997$ dan $R^2 = 0,995$ yang ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Kurva standar bioetanol

Pada kondisi ini, masih dilakukan pemurnian kembali, menggunakan membran kitosan glutaraldehid untuk menghidrasi bioetanol sampai diperoleh konsentrasi bioetanol fuel grade dan dianalisa dengan alat kromatografi gas (GC 2010 Shimadzu) yang hasilnya ditunjukkan pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil pemurnian bioetanol dengan menggunakan membran pervaporasi Kitosan glutaralehid

No.	Komponen	Volume (mL)	Area	Konsentrasi Bioetanol (%)
1	Bioetanol pH 4	105	62354809	29,59
2	Destilasi 1	80	196730489	93,36
3	Destilasi 2	60	207870942	98,65
4	Destilasi akhir	40	215564411	100

Dari Tabel 11. menunjukkan konsentrasi bioetanol sebesar 93,36 % dengan volume bioetanol 80 mL dan faktor keamanan alat 10 %. Selanjutnya pemurnian diteruskan kembali yang sampai diperoleh konsentrasi bioetanol masing - masing 98,65 % dan 100 %, dengan volume bioetanol sebanyak 40 mL.

e. Hasil analisis gasohol terhadap uji emisi gas buang

Hasil analisis gas buang yang terbentuk pada pembakaran bensin dan bioetanol didalam mesin bakar bensin adalah CH, CO, CO₂ dan sisa O₂ yang diakibatkan oleh adanya pembakaran yang tidak sempurna. Pada Tabel 12. menunjukkan kandungan emisi gas buang CH, CO, CO₂ dan sisa O₂ dipengaruhi oleh besarnya putaran mesin dimana semakin besar putaran mesin maka emisi gas buang CO yang dihasilkan akan semakin menurun.

1. Emisi gas buang CO₂ pada bahan bakar

Emisi gas buang CO terbesar 3,67% pada putaran 1500 rpm dengan bahan bakar premium, disebabkan karena kurangnya kandungan O₂ yang tersedia sehingga terjadi pembakaran yang tidak sempurna. Adanya substitusi bioetanol kedalam premium yang semakin besar cenderung menyebabkan kandungan emisi

gas buang CO yang dihasilkan semakin rendah dibanding premium. Sementara kandungan emisi gas buang CO minimum untuk semua jenis bahan bakar diperoleh terendah pada campuran BE-10 sebesar 0,15% yang terjadi pada putaran 3500 rpm. Hal ini karena bioetanol merupakan senyawa oksigenat (35%) yang dapat membantu dalam menyempurnakan proses pembakaran dalam silinder (Prihandana, 2007).

Tabel 12. Data pengujian emisi bahan bakar dari campuran Bensin dan Bioetanol

Kadar Campuran [%]	Putaran (rpm)	CO (%)	CO ₂ (%)	HC (ppm)	O ₂ (%)	λ
E-0	1500	3.67	5.6	480	5.9	1,305
	2000	3.5	6.1	350	6.2	1,330
	2500	2.1	6.8	310	8.2	1,419
	3000	1.91	8.5	290	9.3	1,657
	3500	1.71	9.3	286	10.5	1,895
E-2,5	1500	1.82	6.8	234	4.8	1,077
	2000	1.32	8.2	170	5.5	1,171
	2500	0.87	9	121	6.2	1,359
	3000	0.78	10.6	78	7.2	1,461
	3500	0.28	12.7	44	9	1,502
BE-5,0	1500	1.64	7.3	222	4.4	1,072
	2000	0.91	8.5	150	5.3	1,160
	2500	0.76	9.4	119	6	1,347
	3000	0.59	11.3	62	7	1,402
	3500	0.24	13.3	41	8.8	1,500
BE-7,5	1500	1.31	7.5	183	4.2	1,069
	2000	0.89	8.8	146	4.9	1,142
	2500	0.65	10.1	97	5.8	1,234
	3000	0.42	11.6	55	6.8	1,396
	3500	0.19	13.8	38	8.6	1,483
BE-10	1500	1.08	7.7	173	3.6	1,012
	2000	0.81	8.9	124	4.8	1,119
	2500	0.61	10.8	82	5.6	1,197
	3000	0.22	12.4	44	6.6	1,380
	3500	0.15	14.2	28	8.3	1,472

2. Emisi gas buang CO₂ pada bahan bakar

Emisi gas buang CO₂ dipengaruhi oleh besarnya putaran mesin yaitu semakin besar putaran mesin mengakibatkan emisi gas buang CO₂ semakin meningkat. Kandungan emisi gas buang CO₂ minimum terjadi pada putaran 1500 rpm pada premium. CO₂ merupakan gas yang diperoleh dari sisa pembakaran sempurna sedangkan pada pembakaran tidak sempurna diperoleh emisi gas buang CO (Saragih, 2009), sehingga semakin besar kadar CO₂ yang dihasilkan dari proses pembakaran semakin sempurna dan kandungan emisi gas CO akan semakin berkurang sesuai persamaan 4 pada halaman 30. Nilai CO₂ maksimum pada bahan bakar campuran BE-10 dengan putaran mesin 3500 rpm sebesar 14,2%.

3. Emisi gas buang HC pada bahan bakar

Emisi gas buang HC maksimum terjadi pada putaran 1500 rpm yaitu 480 ppm dari premium. Pada jenis bahan bakar campuran berbanding terbalik terhadap tetapi putaran mesin. Efisien pembakaran dalam silinder meningkat dengan adanya substitusi bioetanol pada premium yaitu semakin kecil jumlah emisi gas HC berarti pembakaran semakin sempurna disebabkan bioetanol memiliki kandungan oksigen yang membuat pembakaran semakin sempurna (Indartono, 2005).

4. Emisi gas buang O₂ pada bahan bakar

Pada campuran E-10 memiliki kandungan O₂ sisa terbesar pada putaran 3500 rpm yaitu 10,5 %. Besarnya nilai sisa O₂ pada gas buang menunjukkan adanya kelebihan oksigen pada proses pembakaran dan keluar melalui gas buang.

BAB VI. **Kesimpulan dan Saran**

6.1 Kesimpulan

Setelah melakukan penelitian ini, maka kesimpulan yang dapat diberikan adalah :

1. Campuran spesies jamur pelapuk putih (*P.chryso sporium*, *L.edodes* dan *P.ostreatus*) dapat mendegradasi lignin pada tongkol jagung sebesar 96,88% dan terjadi kehilangan selulosa sebesar 17,70% dengan waktu inkubasi hari ke- 30.
2. Pada pH awal 4 dan waktu fermentasi selama 7 hari diperoleh konsentrasi produk bioetanol dari tongkol jagung menggunakan metode SSF dengan kombinasi mikroba (*A. niger*, *T.reesei*, *Z. mobilis*, dan *S. cereviciae*) sebesar 11,82 % (sebelum dimurnikan).
3. Konsentrasi bioetanol setelah dimurnikan menggunakan membran pervaporasi dari kitosan glutaraldehid diperoleh sebesar 100% sebanyak 40 mL.
4. Emisi gas buang biopremium (E-10) yang dihasilkan adalah 0,15% gas CO; 14,2 % gas CO₂ dan 28 ppm HC pada putaran 3500 rpm dan masih dibawah standar mutu yang ditetapkan oleh Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 5 Tahun 2006 menetapkan ambang batas CO ≤ 4,5 %, HC ≤ 3300 ppm untuk mesin 2 tak dan 4 tak.

6.2 SARAN

Beberapa hal yang dapat diperlukan untuk pengembangan penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih mendalam pada jumlah tongkol jagung skala industri agar mudah diaplikasikan.
2. Pada proses biodelignifikasi menggunakan campuran jamur pelapuk putih perlu diperhatikan kondisi lingkungan misalnya suhu ruangan, kelembaban dan nutrisinya agar tidak mudah terkontaminasi.

3. Perlu pengkajian lebih mendalam pada pembuatan membran kitosan glutaraldehid agar dapat digunakan kembali (berulang-ulang).

Daftar Pustaka

- Arora, D. S., Sandhu. D. K., 1985, Laccase production and wood degradation by a white-rot fungus *Daedalea flavida*, *Enzyme Microb. Technol.* **7**, 405-408
- Badan Pusat Statistik Provinsi Sulawesi Selatan, 2013, *Produksi Padi & Jagung Juli 2013*, Makassar
- Badger, P. C., 2002, Ethanol from cellulose: a general review. In: Trends in new crops and new uses. Eds. Janick, J., Whipkey, A. *ASHS Press*, Alexandria, VA., 17-21
- Castillo, M.d.P. 1997. Degradation of pesticides by *Phanerochaete chrysosporium* in solid substrate fermentation. Doctor's dissertation.
- Cavallazzi. J.R.P; Catarina M. Kasuya; Marcos A. Soares, 2005, Screening of Inducers For Laccase Production By *Lentinula Edodes* In Liquid Medium. *Braz. J. of Micro.* **36**:383-387
- Dashtban, M., Schraft, H., Syed A. A., Qin W. S., 2010, Fungal Biodegradation And Enzymatic Modification Of Lignin, Review Article, *Int J. Biochem. Mol. Biol.* **1**(1), 36-50
- Datta, R., 1981, Acidogenic Fermentation Of Lignocellulose-Acid Yield And Conversion Of Components, *Biotech. and Bioeng.* **23** (9), 2167-2170
- Dey, S., Maiti, T. K., and Bhattacharyya, B. C., 1994, Production of Some Extracellular Enzymes by a Lignin Peroxidase-Producing Brown Rot Fungus, *Polyporus ostreiformis*, and Its Comparative Abilities for Lignin
- Direktur Jenderal Minyak dan Gas Bumi No. 3674.*, 2006, Tentang Standar Dan Mutu (Spesifikasi) Bahan Bakar Nabati Minyak Jenis Bensin Yang Dipasarkan Di Dalam Negeri, Jakarta
- Enari TM. 1983. Microbiol cellulase. Di dalam: Fogarty WM, editor. *Microbiol Enzyme and Biotechnology*. New York: Applied Science Publisher.
- Fadilah, Distantina, S., Artati, E. K., dan Jumari, A., 2008, Biodelignifikasi Batang Jagung Dengan Jamur Pelapuk Putih *Phanerochaete chrysosporium*, *Ekulilibrium*, **7**, 7 – 11

- Gozan, M., dan Samsuri, M., 2007, Produksi Bioethanol dari Bagas dengan Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SFS), UI
- Hambali, E., Mujdalipah, S., Tambunan, A. H., Pattiwiri, A. W., dan Hendroko, R., 2007, *Teknologi Bioenergi*, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Hatakka, A., 2001, Biodegradation Of Lignin, In M. Hofrichter and A. Steinbuechel, *Biopolymers*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1, 129-180
- Howard, R.T., Abotsi, E., Jansen vanRensburg, E.L., and Howard, S., 2003, *Lignocellulose Biotechnology : Issue of Bioconversion and Enzyme Production*, African Journal of Biotech., 2, 602 -619
- Ishihara, T., 1980, The Role Of Laccase In Lignin Biodegradation, *Microbiol. Chem. Poten. App.*, 2, 17-30.
- Johjima T, Itoh N, Kabuto M, Tokimura F, Nakagawa T, Wariishi H, Tanaka H. 1999. Direct interaction of lignin and lignin peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Proc Natl Acad Sci USA* 66: 1989-1994.
- Kerem, Z., Friesem, D., Hadar, Y., 1992, Lignocellulose Degradation during Solid State Fermentation *Pleurotus ostreatus* versus *Phanerochaete chrysosporium*, *App. Environ. Microbiol.* 58, 1121- 1127
- Kumar, S., Upadhyaya, J. S., and Negi, Y. S., 2010, Preparation Of Nanoparticles From Corn Cobs By Chemical Treatment , Review, *Bioresources*, 5 (2), 1292-1300
- Mishra, C., and Gary, F. L., 1990, Recovery And Fractionation Of The Extracellular Degradative Enzymes From *Lentinula edodes* Cultures Cultivated On A Solid Lignocellulosic Substrate, *J. Ferm. and Bio Eng.* , 69, 8-15
- Sawada, T., Nakamura, Y., Kobayashi, F., Kuwahara, M., Watanabe, T., 1995, Effects Of Fungal Pretreatment And Steam Explosion Pretreatment On Enzymatic Saccharification Of Plant Biomass. *Biotechnol, Bioeng*, 48, 719–724
- Sunna, A. and G. Antraniklan. 1997. Xylanolytic enzyme from fungi and bacteria. *Crit. Rev. in Biotechnol.* 17(1):39-67.
- Sun Y, Cheng J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresources Technology* 83: 1-11.
- Srinivasan, C., Dosouza, T. M., Boominathan, K., Reddy, C. A., 1995, Demonstration Of Laccase In The White Rot Basidiomycete

Phanerochaete chrysosporium BKM-F 1767. *App. Environ. Microbiol.*, **61**, 4274-4277

Steffen, K. T., 2003, *Degradation Of Recalcitrant Biopolymers And Polycyclic Aromatic Hydrocarbons By Litter-Decomposing Basidiomycetous Fungi*, Dissertation, Finland, Dept. of App. Chem. and Micr. Viikki Biocenter, University of Helsinki

Peraturan Presiden Republik Indonesia No. 5, 2006, Tentang Kebijakan Energi Nasional, Jakarta

Palmieri, G.; Giardina, P.; Bianco, C.; Fontanella, B.; Sannia, G. 2000. Copper induction of laccase isoenzymes in the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 920-924.

Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B., 2000. Review paper. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, 74, 25-33.

Prihandana, 2007, *Bioetanol Ubi Kayu Bahan Bakar Masa Depan*, Agromedia, Jakarta

LAMPIRAN 1. Draft Jurnal Internasional pada International Journal of Scientific & Technology Research - [Impact Factor: 0.675]

Biodegradation of lignin from corn cob by using a mixture of *Phanerochaete chrysosporium*, *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*

Mahyati *¹, Abdul Rauf Patong², Muh. Nasir Djide³, dan Paulina Taba²

1. Department Of Chemical Engineering, State Polytechnic of Ujung Pandang, Indonesia
2. Department Of Chemistry, The Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University, Indonesia
3. Department of Pharmacy, The Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Indonesia

* Corresponding author

email	mahyatil@yahoo.com
Telephone	+62 085298353527
Fax	+62 (0411) 586043

Abstract : Corn cob is agricultural waste containing approximately 76% holocellulose (cellulose and hemicellulose). Cellulose can be converted into bioethanol using a method of SSF. Degradation of lignin from corn cob can be conducted by acid, basic and enzymatic methods. The method applied to the process of enzymatic pretreatment was conducted by using a mixture of white rot fungi (*Phanerochaete chrysosporium*, *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus*) to degrade lignin which is environmentally friendly. Results showed that maximum lignin biodegradation, i.e. 96.88%, was achieved after incubation for 30 days by the mixture of white rot fungi

Keyword: biodegradation, lignin, white rot fungi and corn cob

INTRODUCTION

Corn cobs are found as many as 30 b/b% of corn (Koswara, 1991). It is used as an ideal source of lignocellulose which can be found easily. The production of corns in South Sulawesi achieved 424 thousands hectares with the productivity of 4.55 ton per hectare or 1.32 million per year (BPS,2012). The use of corn cobs requires pretreatment (Saha,2003), that can be done by acid, base or enzymatic methods (Isroi, 2011; Alvira et al. 2010; Hendriks and

Zeeman 2009; Taherzadeh and Karimi 2008; Hu et al. 2008; Mosier 2005;).

An enzymatic pretreatment has several advantages, i.e. enzyme works specifically, therefore sugar produced from hydrolysis will not degraded, the process can be conducted at low temperature and neutral medium, higher product will be obtained, and the maintenance cost will be low because the corrosive materials are not used (Taherzadeh dan Karimi, 2007).

Generally, enzymes, which are secondary metabolic from white rot fungi, such as lignin peroxidase (LiP), manganese peroxidase (MnP), laccase (Lac) dan versatile peroxidase (VP). The enzymes play an important role in degradation process of lignin and can oxidize phenolic compounds found in lignocellulose (Van der Merwe, 2002; Higuchi 2004; Wong 2009). Therefore, the use white rot fungi can be an alternative solution for degrading lignin.

Each species of white rote fungi has specific ability in degrading lignin from corn rob.

Degradation of lignin was affected by incubation time of fungi and variation of the mixture of white rot fungi (Zeng et al. 2010; Taccari et al. 2009). *P. chrysosporium* is a white rot fungus that can produce LiP and MnP, but it cannot produce Lac enzyme (Howard, et al, 2003). Lac enzyme is produced by *L. edodes* dan VP is obtained from *P. ostreatus* (Dashtban, et al, 2010). Enzyme produced by *P. ostreatus* is MnP (Sarkar dkk. 1997).

Some researchers have reported degradation of lignin by using just one white rot fungus. This research used three kinds of white rot fungi (*P. chrysosporium*, *L. edodes*, and *P. ostreatus*) for degrading lignin from corn cobs..

MATERIALS AND METHODS

Corn cobs were obtained from waste of corn plants grown by corn farmers from several districts in South Sulawesi Province. Corn cobs were crushed and the corn cob powder obtained were sieved and the powder passed by the 45 meshed filter was collected and dried until the water content of below 10%.

Preparation of delignification media from corn cobs

Corn cob powder (10 g) was put into a 250 mL Erlenmeyer, 0.01 g of glucose and 5 m of 0.004% Tween solution were added into the Erlenmeyer, mixed and then sterilized at 121 °C for 15 min in an autoclave. A 5 mL medium of fungi inoculums was put into the sterile mixture, covered with cotton and aluminum foil and incubated at room temperature for 30 days was analyzed every 5 days. The same treatment was conducted for cultures of *P. chrysosporium*, *L. edodes* dan *P. ostreatus*.

Analysis of lignin and cellulose

Analysis of lignin and cellulose followed the method of Chesson (Datta, 1981). A mixture containing 1 g of dried sample (a) and 150 mL of aquadest was heated in a water bath at a temperature of 90 - 100 °C for 1 h. The mixture was filtered and the residue was washed with hot water (300 mL). The residue was dried in the oven until the weight was constant (b). The residue was mixed with 150 mL of 1 N H₂SO₄ and heated in the water bath at 90 - 100 °C for 1 h. The mixture was filtered and washed with 300 mL of aquadest and then the residue was dried (c). The dried residue was soaked with 10 mL of 72% H₂SO₄ at room temperature for 4. After that, 150 mL of 1 N H₂SO₄ was added into the mixture and refluxed in the water bath for 1 h. The solid was washed with 400 mL of aquadest, heated in the oven at 105 °C and weighed until the constant weight (d). Finally the solid was heated until become ash and weighed (e).The percentage of cellulose and lignin was calculated as follows:

$$\% \text{ cellulose} = \frac{c-d}{a} \times 100\% \dots (1)$$

$$\% \text{ lignin} = \frac{d-e}{a} \times 100\% \dots (2)$$

where: a = sample weight (g), c = the residue weight (g) at the third weighing, d

= the residue weight (g) at the forth weighing, e = the weight of ash (g).

RESULTS AND DISCUSSION

The reduced of cellulose and lignin content as a function of the incubation time using a mixture of 3 species of the white rot fungi was given in Figure 1. The maximum result of corn cobs delignification was obtained with the small amount of cellulose reduced because in the presence of the white rot fungi, different enzymes were produced. The smallest lignin content (0.5 %) for the mixture containing 3 species of fungi was obtained at the incubation time of 30 min at the day-30. At the same condition, the cellulose content was 32.92 %. The maximum lignin content reduced was 96.88 %. Therefore at the day-30, the percentage of lignin reduced was 96,88 % whereas the

percentage of cellulose reduced was 17,70%. This occurs because with the presence of the white rot fungi, enzymes of oxalate oxidase and oxalate dehydrogenase were produced. The enzymes oxidized oxalic acid and therefore, the cellulose will be degraded. The mixture of 3 species of fungi can produce enzymes optimally that worked together to degrade lignin in corn cobs maximally with the smallest percentage of cellulose reduced. This result showed the maximum initial treatment because lignin cannot be removed completely (100%) due to the presence of bonds between lignin and cellulose that has not been known completely (Steffen, 2003). According to Achmadi (1990) , more than 2/3 part of phenyl propane in lignin was related via eter bonds and the rest was related through carbon-carbon bonds.

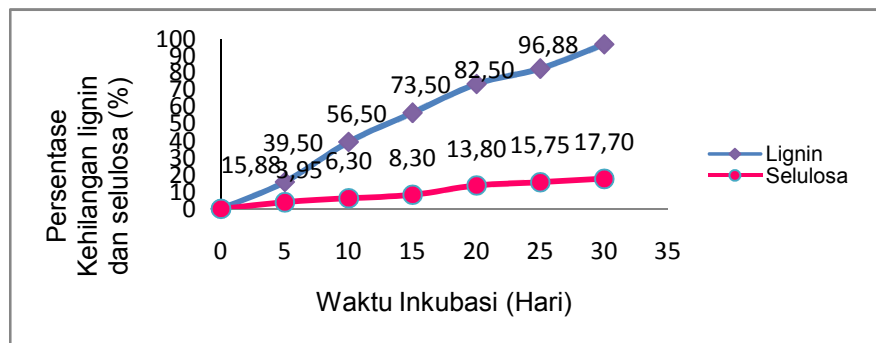


Figure 1. The reduced percentage of cellulose and lignin as a function of the incubation time using a mixture of 3 species of the white rot fungi (*P. chrysosporium*, *L. edodes* and *P. ostreatus*)

At the delignification process using inoculum consisting 3 species of white rot fungi, several enzymes can be produced that worked together to degrade lignin. The enzymes working in the ligninolysis of corn cobs was LIP acting as the main catalyst for degrading non-phenolic units, MnP oxidizing Mn^{2+} to Mn^{3+} to break the phenolic unit of lignin. The other enzyme work in the process was Lac (oxidizing enzyme) working through a dimethylation process changing metoxy

groups to methanol. The radical compounds spontaneously or step by step will remove the intermolecular bonds and some of them will destroy the aromatic rings. Therefore, the bond between lignin and cellulose degraded. Figure 2 shows the presence of Lac produced by *L. edodes* that can oxidize phenolic groups to quinon (Arora and Sandhu, 1985) and produce brown or black colour at corn cobs after incubation with the white riot fungi at the day-30.



a). before delignification



b). After delignification

Figure 2.

The product of corn cob delignification using mixed inoculum of the white rot fungi (*P. chrysosporium*, *L. edodes* and *P. ostreatus*)

CONCLUSION

Degradation of lignin using white rot fungi (*P. chrysosporium*, *L. edodes* and *P. ostreatus*) achieved 96.88%

and the degradation present age of cellulose was 17,70%.

REFERENCES

1. Koswara, J. Budidaya Jagung, Institut Pertanian Bogor. Bogor (1991)
2. Badan Pusat Statistik Provinsi Sulawesi Selatan. Produksi Padi & Jagung, Makassar (2012)
3. Saha, B. C, Hemicellulose Bioconversion, *J. Ind. Microbio. Biotechnol.*, 30, 279-291 (2003)
4. Isroi, Ria Millati, Siti Syamsiah, Claes Niklasson, Muhammad Nur Cahyanto, Knut Lundquist, and Mohammad J. Taherzadeh, Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: A review, *Bioresources* 6(4), Nov. 1 (2011)
5. Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., and Negro, M. J. Pretreatment for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review, *Bioresource Technol.* 101, 4851-4861. (2010)
6. Hendriks, A. T. W. M., and Zeeman, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass," *Bioresource Technol.* 100, 10-18 (2009)
7. Taherzadeh, M. J., and Karimi, K. Pretreatment of lignocellulosic waste to improve ethanol and biogas production," *Int. J. Mol. Sci.* 9, 1621-1651(2008)
8. Hu, G., Heitmann, J. A., and Rojas, O. J. Feedstock pretreatment strategies for producing ethanol from wood, bark and forest residues, *Bioresources* 3, 270-294 (2008)
9. Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y.,

- Holtzapfel, M., and Ladisch, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technol.* 96, 673-686 (2005)
10. Taherzadeh MJ, Karimi K.. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *Bioresources* 2 (3): 472-499 (2007)
 11. Higuchi, T.. Microbial degradation of lignin: Role of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase, *Proc. Jpn. Acad., Ser.B* 80, 204-211 (2004)
 12. Wong, D. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes, *App. Biochem. and Biotech.* 157, 174-209 (2009).
 13. Van der Merwe, J.J., Production of Laccase by The White-Rot Fungus *Pycnoporus sanguineus*, *Master Thesis*, University of the Free State, Bloemfontein. (2002)
 14. Howard RL., E. Abotsi, EL Jansen van Rensburg, S Howard. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Biotechnol.* 2 (12): 602-619 (2003)
 15. Dashtban, M., Schraft, H., Syed A. A., Qin W. S., Fungal Biodegradation And Enzymatic Modification Of Lignin, Review (2010)
 16. Zeng, G., Huang, D., Huang, G., Hu, T., Jiang, X., Feng, C., Chen, Y., Tang, L., and Liu, H. Composting of lead-contaminated solid waste with inocula of white-rot fungus, *Bioresource Technol.* 98, 320-326 (2007).
 17. Taccari, M., Stringini, M., Comitini, F., and Ciani, M. Effect of *P. chrysosporium* inoculation during maturation of co-composted agricultural wastes mixed with olive mill wastewater, *Waste Manag.* 29, 1615-1621 (2009)
 18. Datta, R., Acidogenic Fermentation Of Lignocellulose-Acid Yield And Conversion Of Components, *Biotech. and Bioeng.* 23 (9), 2167-2170 (1981)
 19. Steffen, K. T. *Degradation Of Recalcitrant Biopolymers And Polycyclic Aromatic Hydrocarbons By Litter-Decomposing Basidiomycetous Fungi*, Dissertation, Finland, Dept. of App. Chem. and Micr. Viikki Biocenter, University of Helsinki (2003)
 20. Achmadi, S.S. Diktat Kimia Kayu. Bogor: Pusat, Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor (1990)
 21. Arora, D. S., Sandhu. D. K., Laccase production and wood degradation by a white-rot fungus *Daedalea flavida*, *Enzyme Microb. Technol.* 7, 405-408 (1985)

LAMPIRAN 2. Foto – Foto Kegiatan yang Telah Dilakukan

1. Foto sampel tanaman jagung dan tongkol jagung



2. Foto pengolahan tongkol jagung yang diawali dengan proses pratreatmen



Tongkol jagung di potong-potong

Tongkol jagung dihaluskan dgn crusher

3. Foto serbuk tongkol jagung



4. Foto inokulum yang akan digunakan yaitu *P. chrysosporium*, *L. edodes* dan *P. ostreatus*, *A. niger* dan *T. reesei*, *Z. mobilis* dan *S. cerevisiae*



5. Serbuk tongkol jagung yang telah siap sebagai media untuk tumbuh jamur pelapuk putih



6. Jamur pelapuk putih pada waktu inkubasi 5 hari



7. Jamur pelapuk putih pada waktu inkubasi 10 hari



8. Jamur pelapuk putih pada waktu inkubasi 15 hari



9. Jamur pelapuk putih pada waktu inkubasi 20 hari



10. Jamur pelapuk putih pada waktu inkubasi 25 hari



11. Jamur pelapuk putih pada waktu inkubasi 30 hari



A. Analisa Hasil delignifikasi dengan metoda Chesson Datta (1981)

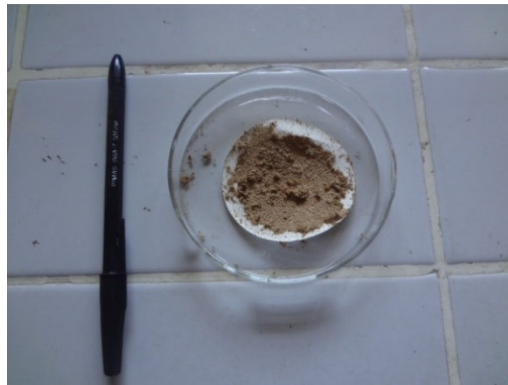
1. Merefluks sampel tongkol jagung hasil delignifikasi



2. Menyaring dengan menggunakan pompa vakum



3. Hasil penyaringan sebelum dikeringkan



4. Hasil penyaringan setelah dikeringkan



B. Proses Sakarifikasi dan Fermentasi

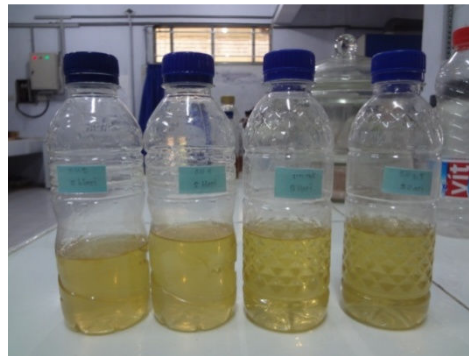
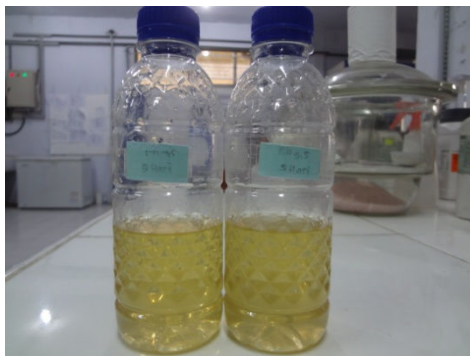
1. Serbuk tongkol jagung yang siap difermentasi setelah delignifikasi



2. Hasil fermentasi dengan berbagai variasi waktu dan pH



3. Bioetanol dari hasil fermentasi setelah disentrifugasi



C. Proses Pemurnian dengan menggunakan membran dari kitosan glutaraldehid

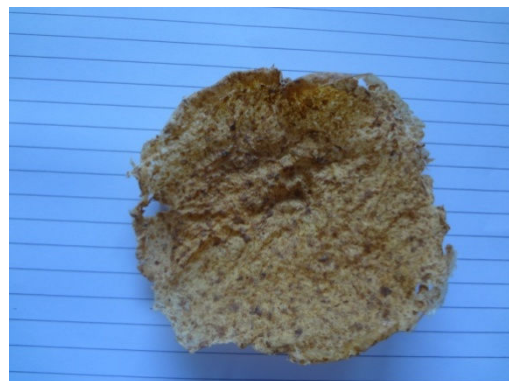
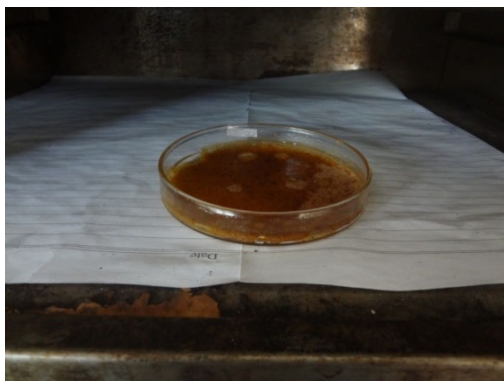
1. Mencampur kitosan, asam asetat 1%, silika, alumina dan glutaraldehid



2. Mencetak membran kitosan glutaraldehid pada petridis



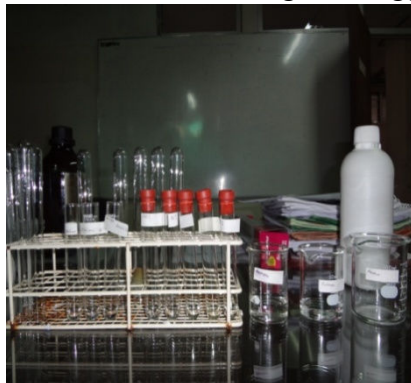
3. Mengeringkan membran didalam oven pada suhu 50 °C



4. Memurnikan bioetanol dari tongkol jagung menggunakan alat distilasi pervaporasi dari kitosan glutaraldehid



5. Analisa bioetanol dengan menggunakan GC



6. Hasil bioetanol full grade



7. Uji emisi gasohol dari campuran bioetanol dengan bensin



Alat Uji emisi bahan bakar



Mencatat emisi gas buang



Pengujian emisi bahan bakar



Gasohol

Bioetanol fuel grade dari tongkol jagung



Format Biodata

Ketua Peneliti :

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Mahyati, ST.,M.Si
2	Jenis Kelamin	P
3	Jabatan Fungsional	Lektor/ III D
4	NIP	197009292002122001
5	NIDN	0029097006
6	Tempat, Tanggal Lahir	Makassar, 29 September 1970
7	E-mail	mahyatil@yahoo.com
8	Nomor Telepon/HP	085298353527
9	Alamat Kantor	Jl. Perintis Kemerdekaan KM. 10 Makassar
10	Nomor Telepon/Faks	(0411)585365/586367/5885368
11	Lulusan yang Telah Dihasilkan	D3 = 2000 orang , D4 = 25 orang
12	Nomor Telepon/Faks	(0411)586043
13	Mata Kuliah yang Diampu	1. Kimia Terapan 2. Pengantar Ilmu Lingkungan 3. Pengolahan Limbah Industri dst

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	UPN"Veteran" Jawa Timur Surabaya	UNHAS	UNHAS
Bidang Ilmu	Teknik Kimia	Kimia	Kimia
Tahun Masuk-Lulus	1993 - 1996	1999 - 2001	2009 - sekarang
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi	Prarancangan Pabrik Hexa Metilen Tetra Amin dari Formaldehid	Model Adsorpsi Zeolit Alam, Tanah Liat dan Abu Batubara dalam Proses Pengolahan Air Payau menjadi Air Tawar	Biokonversi Lignoselulosa Tongkol Jagung Sebagai Bahan Bakar Alternatif Terbarukan
Nama Pembimbing/Promotor	Dr. Ir. Kusno Budhi K.	Prof. Dr. H. Umar Ubbe, MS	Prof. Dr. H. Abdul Rauf Patong

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir
(Bukan Skripsi, Tesis, maupun Disertasi)

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1	2009	Uji efektifitas antibakteri xylitol dari tongkol Jagung terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	OPE	4
2	2009	Rancang bangun prototipe mesin penekan untuk pengemasan rumput laut (<i>Eucheuma cottonii</i>) pasca panen	Stranas	100
3	2010	Rancang bangun prototipe mesin penekan untuk pengemasan rumput laut (<i>Eucheuma cottonii</i>) pasca panen	Stranas	100
4	2010	Biokonversi hemiselulosa dari limbah tongkol jagung menjadi bioetanol sebagai bahan bakar alternatif terbarukan	Hibah Bersaing	35
5	2012	Biokonversi lignoselulosa dari limbah tongkol jagung menjadi bioetanol sebagai bahan bakar alternatif terbarukan	Hibah Doktor	40

* Tuliskan sumber pendanaan baik dari skema penelitian DIKTI maupun dari sumber lainnya.

D. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun
1	Biokonversi holoselulosa dari tongkol jagung menjadi bioetanol sebagai bahan bakar alternatif terbarukan	Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses 2011	26 Juli 2011/ISSN 1411-4216
2	Biokonversi hemiselulosa dari tongkol jagung menjadi bioetanol sebagai bahan bakar alternatif terbarukan	Multek (multiteknik)	Vol VI/Edisi 3/Okttober 2011
3	Analisis motor bakar berbahan bakar premium dengan penambahan aditif bioetanol dari limbah tongkol jagung	Sinergi	ISSN 1693-1548 Vol1/April 2012/tahun ke 10
4	Produksi Bioetanol dari tongkol jagung (<i>Zea Mays L.</i>) menggunakan mikroba campuran (<i>Aspergillus niger</i> , <i>Zymomonas mobilis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Prosiding Seminar nasional teknologi industri I	ISSN 978-602-14537-0-4 Vol.1/ November 2013

E. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses 2011	Biokonversi holoselulosa dari tongkol jagung menjadi bioetanol sebagai bahan bakar alternatif terbarukan	26 Juli 2011/UNDIP Semarang
2	Seminar Nasional Kimia Bahan Alam	Optimasi Degradasi Lignin Dari Tongkol Jagung Menggunakan <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Lentinus edodes</i> dan <i>Pleurotus ostreatus</i>	3-5 September 2013/ UNHAS Makassar
3	Seminar Nasional Teknologi Industri I	Produksi Bioetanol dari tongkol jagung (<i>Zea Mays L.</i>) menggunakan mikroba campuran (<i>Aspergillus niger</i> , <i>Zymomonas mobilis</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	6 November 2013/ ATIM Makassar

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya.

Makassar, 17 November 2013
Peneliti

(Mahyati, ST.,M.Si)

