

**SKRIPSI**

**PRODUKSI BIOETANOL DARI LIMBAH SERBUK GERGAJI  
KAYU SENGON (*Paraserianthes falcataria*) MELALUI  
METODE PRETREATMENT DENGAN JAMUR *Tricoderma  
harzianum* DAN FERMENTASI DENGAN *Saccharomyces  
cerevisiae***

**Disusun dan Diajukan Oleh:**

**UMMUL FAIZAH**

**M01117315**



**PROGRAM STUDI KEHUTANAN  
FAKULTAS KEHUTANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

## LEMBAR PENGESAHAN

**PRODUKSI BIOETANOL DARI LIMBAH SERBUK GERGAJI KAYU  
SENGON (*Paraserianthes falcataria*) MELALUI METODE  
PRETREATMENT DENGAN JAMUR *Tricoderma harzianum* DAN  
FERMENTASI DENGAN *Saccharomyces cerevisiae***

**Disusun dan Diajukan Oleh**

**UMMUL FAIZAH**

**M01117315**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kehutanan Fakultas

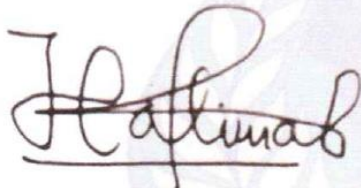
Kehutanan Universitas Hasanuddin

Pada tanggal 28 Februari 2023

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui:

**Pembimbing Utama,**



**Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.**

**NIP. 19820209201504 2 002**

**Pembimbing Pendamping**



**Dr. Sulfahri, S.Si., M.Si**

**NIP. 19890126201409 1 001**

**Ketua Program Studi**



**Dr. Ir. Sitti Nurraeni, M. P.**

**NIP. 19680410199512 2 001**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ummul Faizah  
NIM : M01117315  
Program Studi : Kehutanan  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Produksi Bioetanol dari Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon (*Paraserianthes falcataria*) Melalui Metode Pretreatment dengan Jamur *Tricoderma harzianum* dan Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Tuban, 28 Februari 2023  
Yang Menyatakan



Ummul Faizah

## ABSTRAK

### **UMMUL FAIZAH (M011171315) Produksi Bioetanol dari Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon (*Paraserianthes falcataria*) melalui Metode Pretreatment dengan Jamur *Trichoderma harzianum* dan Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae***

Bahan bakar fosil menyumbang 80% total kebutuhan energi sehingga memerlukan perubahan sumber energi asli. Bioethanol merupakan sumber energi alternatif yang potensial dengan bahan baku biomassa yang bisa didapatkan dari limbah serbuk gergaji kayu sengon (*Paraserianthes falcataria*) dengan kelimpahan yang besar, murah serta mampu mengurangi permasalahan limbah pertanian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pretreatment dengan jamur *T. harzianum* terhadap kadar gula hasil hidrolisis limbah serbuk gergaji kayu sengon (*Paraserianthes falcataria*), pengaruh kombinasi pretreatment ozone dan *T. harzianum* terhadap kadar gula hasil hidrolisis limbah serbuk gergaji kayu sengon (*Paraserianthes falcataria*) serta mengetahui jumlah bioethanol yang dihasilkan dari kombinasi pretreatment dan fermentasi limbah serbuk (*Paraseriantes falcataria*) menggunakan yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian ini mengembangkan metode pretreatment dengan fungi *Trichoderma harzianum* yang kemudian diubah menjadi gula sederhana dan dikonfersi menjadi bioethanol melalui proses fermentasi. berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan sebesar 0,6 (g/g) kadar gula didapatkan dari proses pretreatment limbah serbuk gergaji *Paraserianthes falcataria* melalui proses pretreatment *T. harzianum* sebelum proses ozonolisis dan oven. 0,5 (g/g) gula hasil pretreatment terbaik dari kombinasi pretreatment ozonedengan *T. harzianum*. Kandungan etanol tertinggi sebesar  $0.47 \pm 0.000$  g/g dengan perlakuan penambahan nutrisi fermentasi YE 1 gr/L durasi fermentasi 72 jam.

Kata kunci: *Paraserianthes falcataria*, Bioethanol, *Pretreatment*, *Trichoderma harzianum*, fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae*

## KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena atas limpahan anugerah, rahmat, serta karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “**Produksi Bioetanol dari Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon (*Paraserianthes falcataria*) melalui Metode Pretreatment dengan Jamur *Tricoderma harzianum* dan Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae***”. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan dapat selesai dengan baik tanpa adanya bimbingan, saran, motivasi, dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang tulus kepada:

1. Teristimewa kepada orang tua tercinta, Bapak M. Muslih dan Ibu Suwartin, yang selalu memberikan motivasi, doa, dan dukungan sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalannya dengan baik.
2. Kepada Ibu **Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P.** dan Bapak **Dr. Sulfahri, S.Si., M.Si** selaku dosen pembimbing penulis yang telah menyediakan waktu, pikiran, dan tenaga dalam membimbing serta memberi arahan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak **Prof. Dr Ir Musrizal Muin, M.Sc.** dan ibu **Dr. Andi Sri Rahayu Diza Lestari A., S.Hut., M.Si** selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran, bantuanserta koreksi dalam penyusunan skripsi.
4. Kepada suami saya, Wibim Bayu Mangkurat yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan selama proses pengerjaan penelitian serta penyusunan skripsi.
5. Kepada saudari-saudari kandung saya, Siti Muslihah dan Nur Shofiyah yang selalumendukung saya dalam penyusunan skripsi ini.
6. Keluarga besar “**Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Universitas Hasanuddin**” serta “**Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Indonesia Green Innovation**” terima kasih atas bantuan, diskusi dan saran selama penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu penulis dalam semua proses selama berada di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini sehingga penulis mengharapkan adanya koreksi, kritik dan saran yang membangun, dari berbagai pihak sehingga menjadi masukan bagi penulis untuk peningkatan di masa yang akan datang. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih dan mengharapkan penyusunan skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Tuban, 10 Februari 2023

Ummul Faizah

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN .....	iii
ABSTRAK.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian dan Kegunaan.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Sengon ( <i>Paraserianthes falcataria</i> ).....	4
2.2 Jamur <i>Trichoderma harzianum</i> .....	6
2.3 Pembuatan Bioetanol .....	7
2.4 Ozonolisis .....	8
2.5 Hidrolisis .....	9
2.6 Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	11
2.7 Fermentasi .....	12
III. METODE PENELITIAN .....	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	14
3.2 Alat dan Bahan .....	14
3.2.1 Alat.....	14
3.2.2 Bahan .....	14
3.3 Prosedur Penelitian .....	14
3.3.3 Proses Fermentasi.....	15
3.3.4 Pengukuran Kadar Gula Reduksi dengan Refraktometer.....	16
3.3.5 Pengukuran Biomassa Sel.....	16
3.3.6 Pengukuran Kadar Etanol.....	16
3.4 Rancangan Penelitian Hidrolisis Fungi .....	17
3.5 Rancangan Penelitian Fermentasi .....	17
3.6 Analisis Data Penelitian Hidrolisis Fungi.....	18

3.7	Analisis Data Penelitian Fermentasi.....	18
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	19
4.1	Pengaruh pretreatment dengan Jamur <i>T. harzianum</i> terhadap kadar gulahasil hidrolisis Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon ( <i>Paraserianthes falcataria</i> )...19	
4.2	Pengaruh Kombinasi Pretreatmen Ozone dan <i>T. Harzianum</i> terhadap Kadar Gula Hasil Hidrolisi Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon( <i>Paraserianthes falcataria</i> ).....23	
4.3	Produksi Bioetanol yang dihasilkan dari Kombinasi Pretreatmen dan Fermentasi dari Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon ( <i>Paraserianthes falcatria</i> ) .....25	
V.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	32
5.1	Kesimpulan.....	32
5.2	Saran.....	32
	DAFTAR PUSTAKA .....	33
	LAMPIRAN.....	39



## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Rancangan Penelitian Hidrolisis Fungi.....	17
Tabel 2 Rancangan Penelitian Fermentasi .....	18
Tabel 3 Kandungan Komposisi Kimia Kayu Sengon ( <i>P. falcataria</i> ) .....	19
Tabel 4 Pengaruh Konsentrasi Nutrisi Fermentasi dan Durasi Fermentasi Terhadap Kadar Etanol. ....	25

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Grafik hubungan konsentrasi substrat limbah serbuk gergaji kayu sengon ( <i>P. falcataria</i> ) dan durasi inkubasi terhadap kandungan total gula (gr/L).....	21
Gambar 2 Grafik pengaruh perlakuan dan konsentrasi substrat terhadap kadar gula pereduksi (g/g) .....	23
Gambar 3 Grafik hubungan konsentrasi dan durasi inkubasi terhadap tinggi nya nilai biomassa sel serbuk gergaji <i>P. falcataria</i> .....	29

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 Proses Penelitian .....	40
Lampiran 2 Analisis Hidrolisis .....	45
Lampiran 3 Hidrolisis (Tukey).....	46
Lampiran 4 Tabel Perlakuan (Tukey).....	63
Lampiran 5 Tabel Analisis Biomassa Sel.....	71
Lampiran 6 Biomassa (Tukey).....	72
Lampiran 7 Tabel Uji ANOVA Pengaruh Konsentrasi Nutrisi Fermentasi dan Durasi Fermentasi Terhadap Kadar Etanol .....	92
Lampiran 8 Tabel Uji Tukey Pengaruh Konsentrasi Nutrisi Fermentasi dan Durasi Fermentasi Terhadap Kadar Etanol .....	92

# I. PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Peningkatan populasi manusia yang terus meningkat mengakibatkan kebutuhan energi semakin tinggi. Salah satu sumber energi berasal dari bahan bakar fosil yang mana menyumbang sebesar 80% dari total kebutuhan energi (Arutyunov & Lisichkin, 2017). Pada tahun 2016, kebutuhan energi di Indonesia sebesar 610,5 juta barel, tahun 2017 sebanyak 618,1 juta barel dan pada tahun 2018 mencapai 626,4 juta pada pertengahan abad ini (Shokrkar *et al.*, 2017), sehingga memerlukan perubahan sumber energi asli (Wood & Roelich, 2019).

Bioetanol merupakan sumber bahan bakar alternatif yang potensial karena sifatnya yang terbarukan dan rendah emisi karbon (Chamnipa *et al.*, 2017). Salah satu bahan baku bioetanol yang potensial adalah biomassa yang mengandung selulosa dan lignoselulosa (Cerazy- Waliszewska *et al.*, 2019). Limbah serbuk gergaji kayu merupakan bahan berlignoselulosa yang berpotensi untuk menghasilkan etanol, salah satu limbah serbuk gergaji yang banyak di Indonesia dan belum dimanfaatkan secara optimal adalah serbuk gergaji kayu sengon (*Paraserianthes falcataria*) yang merupakan komoditi kayu yang luas penggunaannya dan mengandung 67,94% selulosa (Irawati, 2009) yang memungkinkan pemanfaatan potongan kecil limbah kayu sengon untuk menghasilkan bioethanol. Industri penggergajian kayu rata-rata menghasilkan limbah sebesar 40,48% volume yang terdiri dari sebetan (22,32%), potongan kayu (9,39%), dan serbuk gergaji (8,77%) (Purwanto (2009). Kelebihan dari sumber tersebut diantaranya memiliki harga yang murah, kelimpahannya besar, dapat mengatasi permasalahan limbah pertanian, dan yang terpenting adalah tidak bersaing dengan kebutuhan pangan (Azka, 2020).

Berdasarkan data Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia (2021). Produksi kayu gergajian tiga tahun terakhir dengan jumlah data tahun 2019 mencapai 2.697.271,32 m<sup>3</sup>, tahun 2020 sebanyak 2.653.686,75 m<sup>3</sup> dan tahun 2021 terhitung sampai bulan oktober

sebesar 1.630.700,29 m<sup>3</sup>, sehingga potensi limbah serbuk penggergajian kayu setiap tahun berlimpah. Demi mewujudkan industri hijau di bidang pengolahan hasil hutan, maka perlu dilakukan pengolahan bahan material lignoselulosa secara efisien sehingga memenuhi kriteria limbah minimal (*zerowaste*) dan/atau peningkatan nilai tambah limbah atau biomassa. Hal tersebut menjadi salah satu faktor penunjang serbuk gergaji sengon (*Paraserianthes falcataria*) cocok digunakan dalam produksi bioetanol.

Proses pembuatan bioetanol dari lignoselulosa terdiri dari tiga tahapan utama, yaitu : *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi (Awatshi *et al.*, 2013). Terdapat berbagai metode *pretreatment* yang umum digunakan, yaitu *pretreatment* asam, *pretreatment* alkali, *pretreatment* enzimatik, *pretreatment* hidrotermal, *pretreatment* ozon, dll., namun umumnya *pretreatment* tersebut membutuhkan biaya yang mahal dan tidak ramah lingkungan. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dikembangkan metode *pretreatment* baru yang menggunakan fungi *Trichoderma harzianum*. Fungi *T. harzianum* akan menghasilkan enzim selulase, xylanase, b-glukosidase (Delabona *et al.*, 2012) dan selulase (Lee *et al.*, 2015) yang efektif dalam menghidrolisis selulosa menjadi gula sederhana (monosugar) (Jamil *et al.*, 2009). Gula sederhana kemudian dikonversi menjadi bioetanol melalui proses fermentasi.

Salah satu mikroorganisme yang umumnya digunakan dalam fermentasi bioetanol adalah yeast *Saccharomyces cerevisiae* yang merupakan jenis khamir atau yeast yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi etanol dan CO<sup>2</sup> (Ahmad, 2005). Spesies ini dapat memfermentasikan berbagai jenis karbohidrat dan menghasilkan enzim invertase yang bisa memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa serta dapat mengubah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida sehingga banyak digunakan dalam industri pembuatan bir, roti ataupun anggur (Agustining, 2012). Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian mengenai produksi bioetanol dari limbah serbuk gergaji kayu sengon (*Paraserianthes falcataria*) melalui metode *pretreatment* dengan jamur *Trichoderma harzianum* dan fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*.

## 1.2 Tujuan Penelitian dan Kegunaan

Tujuan dari dilakukanya penelitiannya ini yakni:

1. Mengkaji pengaruh pretreatment dengan Jamur *T. harzianum* terhadap kadar gula hasil hidrolisis Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon (*Paraserianthes falcataria*)
2. Mengkaji pengaruh kombinasi pretreatment ozone dan *T. harzianum* terhadap kadar gula hasil hidrolisis Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon (*Paraserianthes falcataria*).
3. Mengkaji produksi bioetanol yang dihasilkan dari kombinasi pretreatment dan fermentasi dari Limbah Serbuk Gergaji Kayu Sengon (*Paraserianthes falcataria*) menggunakan yeast *Saccharomyces cerevisiae*.

Kegunaan dari penelitian ini meliputi:

Membantu menyelesaikan masalah pemerintah dari limbah industri yang berupa serpih dan serbuk kayu yang menumpuk dan kurang dimanfaatkan sehingga dapat menyebabkan pencemaran.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Sengon (*Paraserianthes falcataria*)

Sengon termasuk dalam subfamili Mimosoideae dari Leguminosae dan berasal dari Haiti, Indonesia, dan Papua Nugini. Varietas sengon yang digunakan untuk reboisasi merupakan pohon yang tumbuh paling cepat di hutan industri. Ia bahkan tumbuh subur di tanah marginal, di mana ia tumbuh secara simbiosis dengan *Rhizobium* pengikat nitrogen dan jamur mikoriza yang mempromosikan fosfor. Oleh karena itu, spesies ini cocok untuk hutan tanaman industri di negara-negara Asia Tenggara (Binkley et al., 2003; Shively et al., 2004; Kurinobu et al., 2007; Siregar et al., 2007).

Sengon mempunyai dua nama latin, yakni *Albizia falcataria* (L) Fosberg dan *Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen. Pohon sengon (*Paraserianthes falcataria*) merupakan salah satu pionir pohon multipurpose tree species di Indonesia (Tomi, 2017). Sengon mempunyai nama daerah yang bermacam-macam. Sengon dikenal dengan berbagai sebutan seperti; albasia, jeungjing, sengon laut, mbesiah, sengon sebrang (Jawa), jing laut (Madura), pute (Sulawesi), rawe, selawoku merah, seka, sika, sika bot, sikahm, tawasela (Maluku), bae, bai wahogon, wai, wikie (Irian Jaya).

Berikut adalah klasifikasi ilmiah dari tanaman sengon (Warisno dan Kres Dahana, 2009):

Kingdom	:	Plantae (Tumbuh-tumbuhan)
Sub Kingdom	:	Tracheobionta (Tanaman vascular)
Super Division	:	Spermatophyta (Tanaman berbiji)
Division	:	Magnoliophyta (Tanaman berbunga)
Classis	:	Magnoliopsida (Dikotil)
SubClassis	:	Rosidae
Ordo	:	Fabeles
Familia	:	Fabaceae (Leguminoceae)
Genus	:	<i>Paraserianthes</i>

Sengon (*Paraserianthes falcataria*) adalah salah satu pohon yang

tercepat pertumbuhannya di dunia. Pada umur 1 tahun dapat mencapai tinggi 7 m dan pada umur 12 tahun dapat mencapai tinggi 39 m dengan diameter lebih dari 60 cm dan tinggi cabang 10- 30 m. Diameter pohon yang sudah tua dapat mencapai 1 m, bahkan kadang lebih. Batang umumnya tidak berbanir, tumbuh lurus, dan silindris. Pohon sengon memiliki kulit licin, berwarna abu-abu, atau kehijau hijauan (Siregar, 2008).

Daun sengon tersusun majemuk menyirip ganda dengan panjang sekitar 23-30 cm. Anak daunnya kecil-kecil, banyak dan berpasangan, terdiri dari 15-20 pasang pada setiap sumbu (tangkai), berbentuk lonjong (panjang 6-12 mm, lebar 3- 5 mm) dan pendek kearahujung. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau pupus dan tidak berbulu sedangkan permukaan daun bagian bawah lebih pucat dengan rambut-rambut halus (Krisnawati, 2011). Tajuknya berbentuk perisai, jarang dan selalu hijau. Pohon sengon memiliki daun majemuk dengan panjang bisa mencapai 40 cm. Dalam satu tangkai daun terdiri dari 15-25 daun dengan daun berbentuk lonjong (Siregar, 2008). sedangkan Bunga sengon tersusun dalam malai berukuran panjang 12 mm, berwarna putih kekuningan dan sedikit berbulu, berbentuk seperti saluran atau lonceng. Bunganya biseksual, terdiri dari bunga jantan dan bunga betina.

Buah sengon berbentuk polong, pipih, tipis dan panjangnya sekitar 6-12 cm. Setiap polong buah berisi 15-30 biji. Biji tersebut biasanya terlepas dari polongnya yang terbuka bila masak. Biji sengon berbentuk pipih dengan lebar sekitar 3-4 mm dan panjang 6-7 mm. Biji sengon termasuk biji ortodok, di mana biji mampu disimpan lama asalkan kadar airnya rendah (6-8%). Biji sengon memiliki daya kecambah yang cukup tinggi, hingga mencapai 80% (Warisno, 2009) Akar dari pohon sengon berupa serabut atau sering disebut rambut akar. Akar-akar ini membantu menyerap air dan unsur hara. Selain itu, pada akar sengon juga terdapat bintil akar yang merupakan hasil simbiosis tanaman sengon dengan bakteri pengikat nitrogen. Dengan adanya bintil akar, tanaman sengon dapat mengikat nitrogen bebas sendiri (Warisno, 2009).

Praptoyo dan Puspitasari (2012) mengatakan kayu sengon memiliki berat jenis yang ringan dan memiliki tekstur yang halus sampai cukup halus. Warna



kayu bagian gubal adalah kuning cerah sampai merah kecoklatan, sedangkan berat jenis kayu ini antara 230-500 kg/m<sup>3</sup> pada 12%-15% moisture content (kadar air). Kayu sengon ini apabila bersentuhan langsung dengan tanah dapat bertahan antara 0,5 – 2,1 tahun, namun apabila dirawat dengan perlakuan tertentu dapat bertahan hingga 15 tahun pada kondisi iklim tropis (Siregar, 2008). Lignoselulosa terdiri atas selulosa, hemiselulosa dan lignin. Menurut Achmad, Herliyana, & Wartaka (2008), kandungan kimia dalam serbuk gergaji sengon yaitu selulosa 49,40%, hemiselulosa 24,10%, lignin 23,55% dan zat ekstraktif 4,67%.

## 2.2 Jamur *Trichoderma harzianum*

Salah satu mikroorganisme fungsional yang dikenal sebagai biofungisida adalah jamur *Trichoderma*. *Trichoderma sp.* sebagai organisme pengurai, dapat pula berfungsi sebagai agen hayati dan stimulator pertumbuhan tanaman. Biakan jamur *Trichoderma* dalam media aplikatif dapat diberikan ke areal pertanaman dan berlaku sebagai biodekomposer, mendekomposisi limbah organik menjadi kompos yang bermutu dan dapat digunakan sebagai biofungisida. *Trichoderma sp.* dapat menghambat pertumbuhan beberapa jamur penyebab penyakit pada tanaman antara lain, *Rigidiforus lignosus*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, dan lain sebagainya (Maspariy, 2011).

Klasifikasi *Trichoderma harzianum* (Rifai, 1969) adalah

sebagai berikut: Kingdom : Kapang

Divisi : Ascomycota

Kelas : Sordariomycetes

Ordo : Hypocreales

Famili : Hypocreaceae

Genus : *Trichoderma*

Species : *Trichoderma harzianum*

*T. harzianum* memiliki kemampuan untuk menghancurkan selulosa, zat pati, lignin, dan senyawa-senyawa organik yang mudah larut seperti protein dan gula (Afrizal, 2010) sehingga dapat menggunakan banyak sumber hara untuk pertumbuhannya. Jamur *T. harzianum* berkembang cepat dalam lingkungan dengan kemampuannya menggunakan berbagai macam substrat. *T. harzianum*

menghasilkan antibiotik yang termasuk kelompok furanon yang dapat menghambat pertumbuhan spora dan hifa mikroba patogen, diidentifikasi dengan rumus kimia 3-(2-hydroxypropyl)-4-(2-hexadienyl)-2,5-dihydrofuran. Antibiotik ini menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* pada tanah sehingga menyebabkan jumlah *T. harzianum* akan lebih banyak dibandingkan dengan *F. oxysporum*. Pertumbuhan jamur *T. harzianum* yang cepat di dalam tanah akan mendesak pertumbuhan *F. oxysporum* pada daerah sekitar akar.

*T. harzianum* merupakan jamur yang bersifat mikoparasit, artinya jamur ini dapat menghambat pertumbuhan patogen dengan parasitisme. *T. harzianum* melilit hifa *F. oxysporum* dan menghasilkan enzim khitinase yang dapat merombak dinding sel *F. oxysporum* (Jayakusumah, 2011). Menurut Chet dan Sivan (1989) dalam Wahyudi dkk (2005), dinding sel *F. oxysporum* terdiri atas heksosamine (16,5%), gula netral (37,9%) dan komponen minor lainnya seperti lemak (4,2%), protein (5,6%), abu (1,4%), residu tak terhidrolisis (25,1%). Ciri khas dinding sel *Fusarium* adalah adanya kitin dalam jumlah besar. Menurut Chu dan Alexander (1970) dalam Wahyudi dkk (2005), dinding sel *F. oxysporum* mengandung heteropolisakarida dan protein yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan *F. oxysporum* bersifat rentan terhadap enzim litik seperti khitinase dan  $\beta$ -1,3 glukonase di dalam tanah.

Jamur *T. harzianum* berperan sebagai dekomposer dalam proses pengomposan untuk mengurai bahan organik seperti selulosa menjadi senyawa glukosa. Keunggulan dalam penggunaan jamur *T. harzianum* adalah selain jamur ini bisa menghasilkan enzim yang dapat memecah selulosa menjadi glukosa, jamur ini juga dapat digunakan sebagai biokapangside yang ramah lingkungan karena tidak menimbulkan pencemaran atau berdampak negatif pada lingkungan melainkan dapat mengembalikan keseimbangan alamiah dan kesuburan tanah (Soesanto, 2004).

### **2.3 Pembuatan Bioetanol**

Upaya yang dapat dilakukan dalam menghadapi ketersediaan energi fosil yang semakin menipis adalah dengan melakukan penelitian dan pengembangan sumber energi alternatif dan terbarukan sebagai energi alternatif pengganti energi fosil, salah satu energi alternatif yang dapat dikembangkan dan berbahan

baku alam adalah bioetanol (Yitzhak, 2013). Etanol atau etil alkohol dapat diproduksi secara fermentasi dari bahan baku yang mengandung gula atau dapat juga diproduksi dari turunan minyak, tetapi sebagian besar yaitu sekitar 93% produksi etanol di dunia diproduksi secara fermentasi (Erdei et al., 2010).

Bahan alam non-pangan yang melimpah dan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol adalah lignoselulosa (Sing et al., 2013). “lignoselulosa adalah komponen organik di alam yang terdiri dari tiga tipe polimer yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Komponen ini akan berubah menjadi glukosa saat dilakukan proses hidrolisis yang selanjutnya dapat difermentasi menjadi etanol. Lignoselulosa dapat diperoleh dari bahan kayu, jerami, rumput-rumputan, limbah pertanian, limbah industri kertas dan bahan berserat lainnya” (Ganguly et al., 2012). Proses pembuatan bioetanol dari lignoselulosa terdiri dari tiga tahapan utama, yaitu: *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi (Awatshi, et al., 2013) terdapat berbagai metode *pretreatment* yang umum digunakan, yaitu *pretreatment* asam, *pretreatment* alkali, *pretreatment* enzimatik, *pretreatment* hidrotermal, *pretreatment* ozon, dll. (Delabona et al., 2012) sedangkan salah satu mikroorganisme yang umumnya digunakan dalam fermentasi bioetanol adalah yeast *Saccharomyces cerevisiae* yang merupakan jenis khamir atau yeast yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi etanol dan CO<sub>2</sub> (Ahmad, 2012).

#### **2.4 Ozonolisis**

Metode perlakuan awal menggunakan ozonolisis sudah dilakukan sejak 1980-an dan banyak diperbandingkan dengan metode lain. Hal ini karena metode ozonolisis/oksidatif dapat menghasilkan biomassa dengan tingkat hidrolisis (oleh enzim) yang cukup baik. Tingkat hidrolisis yang cukup baik tercipta sebab ada reaktivitas ozon pada lignin yang meningkatkan presentase delignifikasi biomassa lignoselulosa. Sebenarnya, perlakuan menggunakan ozon tidak hanya mendegradasi lignin, tetapi juga melarutkan sedikit hemiselulosa atau selulosa karena reaktivitas ozon terhadap polimer karbohidrat, seperti hemiselulosa dan selulosa, 10<sup>6</sup> kali lebih lambat dari pada reaktivitas ozon terhadap lignin (Travaini dkk., 2016).

Ozonolisis melepaskan senyawa larut kecil molekul berat, asam terutama

organik seperti karboksilat dan asam asetat, yang dapat mengakibatkan penurunan pH 6,5-2. Rentang produk ozonolisis dipengaruhi oleh struktur biomassa lignoselulosa serta kelembaban konten. Kadar air dalam lignoselulosa yang lembab memiliki pengaruh besar dalam proses ozonolisis. Air menginduksi dinding sel dan terjadi pembengkakan yang akibatnya memberikan akses bagi ozon untuk masuknya kelompok fungsional lignin. Juga bertindak sebagai pelarut ozon dan beberapa delignifikasi produk (fragmen lignin). Pada kelembaban yang rendah, lignin sebagian besar bereaksi dengan ozon gas. Meskipun sejumlah besar dipasok ozon, degradasi lignin hampir diabaikan karena dengan luas permukaan kontak agak kecil antara ozon dan lignin. Di sisi lain, ketika kelembaban sangat tinggi, konsekuensi yang serupa terjadi karena ozon sekarang diserap dan membusuk di sebagian besar air (Jibouri *et al.*, 2015). Garcia- Cubero *et al.*, (2009) melaporkan bahwa kadar air dan konsentrasi ozon mempengaruhi tingkat delignifikasi proses kerja dari ozonolisis.

Beberapa faktor yang mempengaruhi metode ozonolisis dalam meningkatkan laju hidrolisis sebagai berikut (Traivani dkk., 2016). (a) Kadar air substrat (optimum 60%), tidak optimumnya kadar air substrat menyebabkan lebih banyak tahap perlakuan awal ozonolisis yang diperlukan agar hasilnya optimal. Namun, hal ini berarti jumlah ozon yang diperlukan pun semakin banyak sehingga metode ini menjadi mahal. (b) pH biomassa yang dapat mempengaruhi terdegradasinya sebagai komponen selulosa. (c) Waktu proses dan kontak ozon terhadap biomassa sangat krusial karena mempengaruhi struktur lignin.

Kelebihan metode ozonolisis dalam proses pembuatan bioethanol adalah tidak ditemukannya hasil degradasi yang bersifat inhibitor bagi mikroorganisme fermentasi, seperti HMF dan furfural. Selain itu, hasil hidrolisis enzimatis juga meningkat dari 29% menjadi 85% dibandingkan biomassa tanpa perlakuan awal menggunakan ozonolisis (Garcia-cubero dkk., 2009). (Bule dkk., 2013) melaporkan bahwa ozonolisis selama kurang dari dua jam pada biomassa dengan ukiran partikel 60 mesh dan kadar air 60% dapat meningkatkan hidrolisis enzimatis biomassa dengan optimal.

## **2.5 Hidrolisis**

Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Konversi polimer karbohidrat dalam bahan baku lignoselulosa dapat difermentasi menjadi gula (Zhu *et al.*, 2015). Proses hidrolisis bisa dilakukan secara fisika, kimia maupun biologi. Proses hidrolisis secara fisika yaitu dengan cara pemanasan atau perebusan. Proses hidrolisis secara kimia yaitu dengan penambahan larutan asam atau basa. Sedangkan proses hidrolisis secara biologi yaitu dengan penggunaan enzim. Kombinasi ketiga jenis metode hidrolisis juga biasa dilakukan dalam industri fermentasi (Sulfahri *et al.*, 2016).

Bahan kimia yang dominan digunakan pada proses hidrolisis adalah asam. Beberapa jenis asam dapat digunakan untuk hidrolisis, seperti asam sulfat, asam klorida, asam fluoride, asam fosfat, asam nitrat dan asam format (Galbe dan Zacchi, 2002). Untuk mendapatkan konversi selulosa yang tinggi, penggunaan asam dengan konsentrasi rendah (antara 2-5%), harus dibarengi dengan temperature yang tinggi (Verardi *et al.*, 2012). Kelebihan dan kekurangan metode hidrolisis menggunakan asam pekat (konsentrasi tinggi) dan asam encer (konsentrasi rendah). Kelemahan lainnya adalah menghasilkan senyawa toksik yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada proses fermentasi nantinya. Sehingga banyak yang beralih menggunakan hidrolisis enzimatis dimana selain produk yang dihasilkan aman, senyawa penghambat pertumbuhan mikroba tidak terbentuk. Hidrolisis secara asam ini memiliki kelebihan karena murah dan mudah digunakan (Abd. Rahim *et al.*, 2014).

Hidrolisis enzimatis dapat dilakukan secara terpisah dari fermentasi atau secara kombinasi dengan fermentasi. Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa keuntungan dibandingkan hidrolisis asam, antara lain dapat menurunkan resiko korosi pada alat dan mengurangi kehilangan energy pada bahan bakar produksi. Selain itu, kelebihan dari

hidrolisis enzimatis adalah gula yang dihasilkan seragam dan tidak mengandung produk- produk lain sebagai hasil degradasi glikosa. Hal tersebut penting apabila glukosa akan dimanfaatkan lebih lanjut untuk proses fermentasi. Sedangkan kekurangan dari hidrolisis enzimatis adalah berkurangnya laju hidrolisis yang disebabkan oleh inhibisi enzim seiring dengan meningkatnya konsentrasi glukosa didalam reactor (Sun & Cheng, 2002).

## 2.6 Yeast *Saccharomyces cerevisiae*

Ragi adalah suatu macam tumbuh- tumbuhan bersel satu yang tergolong kedalam keluarga cendawan. Ragi berkembang biak dengan suatu proses yang dikenal dengan istilah pertunasan, yang menyebabkan terjadinya peragian. Peragian adalah istilah umum yang mencakup perubahan gelembung udara dan yang bukan gelembung udara (aerobic dan anaerobic) yang disebabkan oleh mikroorganisme. Dalam pembuatan roti, sebagian besar ragi berasal dari mikroba jenis *Saccharomyces cerevisiae*. Ragi merupakan bahan pengembang adonan dengan produksi gas karbondioksida (Ahmad, 2005).

*Saccharomyces* berasal dari bahasa Latin Yunani yang berarti “gula jamur” sedangkan *cerevisiae* berasal dari bahasa Latin yang berarti bir (Sukoco, 2010). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan jenis khamir yang mempunyai sel tunggal. Sel khamir terdiri dari kapsul, dinding sel, membran sitoplasma, nucleus, vakuola, globula lipid dan mitokondria. Khamir ini berbentuk oval (bulat telur) dengan ukuran sekitar 1-5 $\mu$ m atau 20-25 $\mu$ m dengan lebar sekitar 1-10 $\mu$ m. Koloninya berbentuk rata, lembab, mengkilap dan halus (Agustining, 2012).

Jamur *Saccharomyces* merupakan jenis khamir atau ragi atau yeast yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi etanol dan CO<sup>2</sup>. *Saccharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu, tidak berklorofil, dan termasuk golongan eumycetes, tumbuh baik pada suhu 30°C dan pH 4,5-5. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber karbon, unsur N, unsur ammonium dan pepton, unsur mineral dan vitamin (Ahmad, 2005).

Klasifikasi dari *Saccharomyces cerevisiae* (Agustining, 2012).

Filum : Ascomycota

Subfilum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Species	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

*Saccharomyces cerevisiae* termasuk dalam golongan Ascomycomycetes karena dapat membentuk askospora dalam askus. Spesies ini dapat bereproduksi secara seksual dengan membentuk spora seksual berupa konidium atau juga bereproduksi secara aseksual dengan membentuk spora aseksual berupa askospora sebanyak 4-8 buah dalam askus serta melakukan pertunasan. Pertunasan pada spesies ini dapat berupa pertunasan multilateral, yaitu tunas dapat tumbuh disekitar ujung sel (Agustining, 2012).

Sel *S. cerevisiae* dapat tumbuh pada medium yang mengandung air gula dengan konsentrasi tinggi. *S. cerevisiae* merupakan golongan khamir yang mampu memanfaatkan senyawa gula yang dihasilkan oleh mikroorganisme selulolitik untuk pertumbuhannya. Spesies ini dapat memfermentasikan berbagai karbohidrat dan menghasilkan enzim invertase yang bisa memecah sukrosa menjadi glukosa dan frukosa serta dapat mengubah glukosa menjadi alcohol dan karbondioksida sehingga banyak digunakan dalam industri pembuatan bir, roti ataupun anggur (Agustining, 2012).

## **2.7 Fermentasi**

Kata fermentasi berasal dari bahasa latin yaitu *ferverve*, yang berarti dalam keadaan mendidih atau bergelembung, akibat terjadinya gelembung CO<sub>2</sub> dari katabolisme senyawa organik, pada mulanya dikenal sebagai aktivitas khamir pada ekstrak buah atau nira (Sulfahri *et al.*, 2016). Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk (metabolit primer dan sekunder) dalam suatu lingkungan terkendali.

Proses fermentasi digunakan secara ekstensif dalam bioteknologi, farmasi, makanan dan industri minuman. Biasanya, fermentasi memanfaatkan mikroorganisme (bakteri, ragi) untuk menghasilkan produk yang diinginkan dari

substrat. Butyl alkohol, aseton, asam sitrat, hidrogen, glikol, alkohol bahan bakar, dan bir adalah contoh dari ratusan biokimia yang dihasilkan oleh fermentasi. Dalam banyak kasus, fermentasi adalah biaya lebih cara yang efektif untuk memproduksi produk. Jumlah oksigen terlarut di kaldu fermentasi memiliki implikasi besar untuk reaksi yang terjadi dalam ragi. Ketika oksigen hadir, respirasi terjadi konversi sederhana gula ke sel massa dan karbon dioksida (Mishra *et al.*, 2014).

Reaksi pembentukan etanol terjadi karena adanya aktivitas dari mikroba pada substrat. Mikroba akan menggunakan materi yang mengandung karbon seperti glukosa atau pati untuk proses metabolismenya. Pada kondisi aerobik pemecah gula membutuhkan oksigen melalui berbagai lintasan proses fermentasi diantaranya adalah khamir (ragi), kapang dan bakteri. Namun, tidak semua mikroba tersebut dapat digunakan langsung. Mikroorganisme yang dipilih yang mampu tumbuh dengan cepat dan mempunyai toleransi tinggi terhadap konsentrasi gula yang tinggi sehingga dapat menghasilkan kadar bioetanol yang dikehendaki.

Dalam penelitian dijelaskan bahwa beberapa bahan baku mengandung lignoselulosa yang dipolimerasi dalam bentuk selulosa dan hemiselulosa sehingga menghasilkan gula melalui proses fermentasi (Chen *et al.*, 2014). Lama fermentasi dipengaruhi oleh faktor-faktor secara langsung maupun tidak langsung yang berpengaruh terhadap proses fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, oksigen dan mikroba yang digunakan. Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrisi-nutrien yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi (Azizah *et al.*, 2012).