

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengembangan energi terbarukan atau *renewable energy* sangat penting untuk menjaga cadangan minyak bumi dan menggantikan bahan bakar fosil sebagai sumber energi utama. Masyarakat mulai menggunakan energi terbarukan ini sebagai alternatif untuk melakukan aktivitas sehari-hari mereka. Tidak diragukan lagi, sumber energi fosil semakin tidak tersedia dan mahal. Badan energi dunia, *International Energy Agency* (IEA) menyatakan bahwa permintaan energi dunia akan meningkat sebesar 45% atau rata-rata 1,6% per tahun hingga tahun 2030, sekitar 80% dari kebutuhan energi dunia dihasilkan dari bahan bakar fosil dan jika hal ini terus dilakukan maka cadangan minyak bumi akan habis (Fadholi dan Muhaji, 2019). Salah satu bentuk energi terbarukan yang potensial untuk menggantikan bahan bakar fosil adalah bioetanol.

Bioetanol merupakan jenis etanol yang berasal dari bahan nabati dan umumnya diproduksi melalui proses fermentasi. Etanol atau etil alkohol (C_2H_5OH) adalah cairan bening tak berwarna yang mudah larut dalam air, eter, aseton, benzena, serta berbagai pelarut organik lainnya. Senyawa ini memiliki bau khas alkohol, bersifat mudah terurai secara alami (*biodegradable*), memiliki toksisitas rendah, dan tidak menyebabkan polusi udara yang signifikan jika terjadi kebocoran. Ketika terbakar, etanol menghasilkan karbon dioksida (CO_2) dan air (Bahri et al., 2018). Keunggulan utama bioetanol dibandingkan bahan bakar fosil adalah kemampuannya menghasilkan emisi polusi yang lebih rendah, mudah terbakar, serta memiliki nilai kalor bakar netto yang cukup tinggi, yaitu sekitar dua pertiga dari nilai kalor bakar bensin (Novelia et al., 2022). Menurut Beluhan et al. (2023), produksi etanol dari biomassa lignoselulosa melibatkan tiga tahap utama, yaitu delignifikasi untuk menghilangkan lignin, hidrolisis enzimatis untuk mengubah polisakarida menjadi gula sederhana, dan fermentasi oleh mikroorganisme seperti *Zymomonas mobilis* atau *Saccharomyces cerevisiae* untuk menghasilkan etanol. Bahan baku pembuatan bioetanol umumnya berasal dari sumber yang mengandung gula sederhana, pati, atau selulosa, seperti jagung, ubi kayu, sorgum (bahan berpati), molase, nira tebu, nira kelapa (bahan bergula), serta jerami padi, tongkol jagung, dan onggok (bahan berselulosa) (Renni et al., 2016).

Tanaman jagung merupakan salah satu makanan pokok utama di Indonesia yang banyak dikonsumsi, sehingga menghasilkan limbah alami dalam a dari Badan Pusat Statistik (BPS) menunjukkan bahwa s meningkat setiap tahun. Pada tahun 2010, produksi jagung 18,3 juta ton, dan pada tahun 2012 meningkat menjadi 19 juta ng terus mengalami kenaikan setiap tahunnya. Pada tahun ing di Sulawesi Selatan tercatat sebesar 1.528.413 ton yang gai daerah. Salah satu pemasok utama jagung berasal dari



Kabupaten Luwu Utara, yang mencatatkan produksi sebesar 36.309 ton. Data ini menggambarkan tren pertumbuhan produksi jagung yang semakin pesat (BPS Sulawesi Selatan, 2023). Hal ini mencerminkan pentingnya jagung dalam sektor tanaman pangan dan perekonomian Indonesia. Namun, hanya 5% dari tanaman jagung yang dimanfaatkan sebagai bahan pangan, sementara 95% sisanya, termasuk batang, daun, kulit, dan tongkol jagung, merupakan limbah. Salah satu limbah dari jagung yang belum diolah dengan maksimal adalah kulit jagung dan daun jagung (Ginting, 2015). Kulit jagung memiliki potensi sebagai bahan baku bioetanol karena mengandung senyawa lignin sebesar 15,7%, selulosa 36,81%, dan hemiselulosa 27,01% (Naisuan et al., 2023). Selain itu, daun jagung juga memiliki potensi sebagai bahan baku bioetanol, dengan kandungan lignin 10,55%, selulosa 34,56%, dan hemiselulosa 22,59% (Pasue et al., 2019). Senyawa-senyawa ini dapat dikonversi menjadi produk lain, seperti bioetanol. Secara biologis, selulosa merupakan sumber karbon utama yang dapat dimanfaatkan oleh mikroba sebagai substrat dalam menghasilkan sebuah produk, seperti bioetanol, dalam proses fermentasi (Deta et al., 2022).

Metode Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) adalah metode di mana proses hidrolisis (pemisahan selulosa menjadi gula sederhana) dan fermentasi (konversi gula menjadi etanol) dilakukan secara bersamaan dalam satu reaktor. Pada metode ini, enzim dan mikroorganisme fermentatif dicampurkan dalam satu wadah reaksi, sehingga glukosa hasil hidrolisis dapat langsung difermentasi menjadi etanol tanpa harus menunggu proses hidrolisis selesai. Keunggulan utama dari metode SSF adalah efisiensi konversi glukosa menjadi etanol yang lebih tinggi, karena kedua proses berlangsung secara simultan. Hal ini juga membantu mengurangi hambatan kerja enzim selulase akibat akumulasi gula residu dalam sistem (Dahnum et al., 2015). Metode ini memiliki beberapa kelebihan tambahan, antara lain waktu proses yang lebih singkat, risiko kontaminasi yang lebih rendah, serta pengurangan biaya produksi karena hanya memerlukan satu reaktor. Meskipun demikian, penerapan metode SSF memerlukan pengendalian kondisi proses yang ketat, seperti suhu, pH, dan kadar oksigen, untuk memastikan bahwa enzim dan mikroorganisme bekerja secara optimal. Tantangan lain yang sering dihadapi adalah stabilitas enzim dalam kondisi fermentasi serta toleransi mikroorganisme terhadap kadar etanol yang meningkat selama proses berlangsung. Menurut Gonçalves et al. (2016), metode SSF telah terbukti efektif untuk produksi bioetanol dari biomassa lignoselulosa dengan menggunakan mikroorganisme seperti *Saccharomyces tipitis*, dan *Zymomonas mobilis*.



s mobilis adalah bakteri anaerobik fakultatif yang mampu menguraikan glukosa, dan fruktosa sebagai sumber energi. Bakteri ini tahan dan dapat bertahan terhadap konsentrasi etanol hingga 10%. *Zymomonas mobilis* mengubah gula menjadi etanol dan CO₂ melalui jalur "Entner-Doudoroff" tanpa melibatkan oksigen, sehingga

menghindari penghambatan pernapasan yang sering terjadi pada mikroorganisme lain. Jalur ini memungkinkan fermentasi berlangsung efisien dalam kondisi anaerobik. Selain itu, bakteri ini memiliki toleransi yang tinggi terhadap etanol, yang memungkinkan penyerapan glukosa menjadi lebih efisien dan meningkatkan kemurnian etanol yang dihasilkan. Kemampuan tersebut menjadikan *Zymomonas mobilis* sangat cocok untuk produksi bioetanol, terutama dari bahan yang mengandung gula sederhana maupun pati yang sudah dihidrolisis menjadi gula. Selain kecepatan pertumbuhannya, toleransi terhadap etanol ini juga penting karena etanol yang dihasilkan dalam proses fermentasi dapat bersifat toksik bagi mikroorganisme lain, sehingga bakteri ini mampu bekerja optimal pada konsentrasi etanol yang lebih tinggi. Dengan demikian, *Zymomonas mobilis* mampu meningkatkan efisiensi dan hasil produksi bioetanol (Kusmiyati et al., 2016). Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan kulit jagung dan daun jagung *Zea mays* L. dalam produksi bioetanol menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis*.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan kulit jagung dan daun jagung *Zea mays* L. dalam produksi bioetanol menggunakan bakteri *Zymomonas mobilis*

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan alternatif pemanfaatan limbah kulit jagung dan daun jagung yang melimpah sebagai bahan baku bioetanol, yang mendukung upaya pengurangan limbah pertanian sekaligus pengembangan energi terbarukan.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Februari – Mei 2025. Pengambilan sampel dilakukan di Kab. Luwu Utara. Analisis Hemiselulosa, Selulosa, dan Lignin dilakukan di Laboratorium Kimia Pakan Fakultas Peternakan Unhas. Produksi bioetanol dan preparasi sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unhas. Pengujian GC-MS dilakukan di Laboratorium Terpadu Teknik Kimia PNUP.

2.2 Alat dan Bahan Penelitian

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, erlenmeyer, gelas kimia, batang pengaduk, gelas ukur, kaca preparat, corong, pipet tetes, kaca masir, toples kaca, botol UC, botol vial 15 mL, bunsen, ose bulat, spoit, talang oven, sendok tanduk, spatula, gegap, rak tabung, ayakan 35 mesh, labu semprot, *magnetic stirrer*, sabit, gunting, cutter, *trashbag*, jaring hitam, tali rafia, karet gelang, blender, oven, timbangan analitik, timbangan analitik digital, hot plate, inkubator, shaker rotator, mikroskop, spektrofotometer, pompa vakum, tanur, GC-MS, *hammer mill*, alat destilasi, desikator, pH meter, enkas dan autoklaf.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri *Zymomonas mobilis*, daun jagung, kulit jagung, Nutrien Agar (NA), K_2HPO_4 , $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4$, $CaCl_2$, $FeSO_4$, yeast extract, NaOH 3%, H_2O_2 3%, HCl, H_2SO_4 72%, minyak emersi, larutan ADF aquades, kapas, aluminium foil, kertas saring dan kertas label.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pengambilan dan Preparasi Sampel

Pengambilan sampel kulit dan daun jagung *Zea mays* L. dilakukan di Desa Putemata, Kabupaten Luwu Utara. Kulit dan daun jagung *Zea mays* L. yang diambil disimpan kedalam *trashbag*. Sampel dipotong-potong kecil berukuran 1-2 cm menggunakan gunting, kemudian dipisahkan dari kotoran dan dicuci bersih. Kulit dan daun jagung *Zea mays* L. yang telah bersih dikeringkan di bawah sinar matahari menggunakan jaring waring hitam selama tiga hari untuk mempercepat

nya. Setelah kering, sampel disimpan dalam *trashbag* yang akan masuk selama penyimpanan.

Daun jagung yang telah dikeringkan kemudian dicacah untuk analisis. Mesin pencacah dinyalakan terlebih dahulu, kemudian sampel dimasukkan untuk diperkecil ukurannya. Hasil pencacahan dikumpulkan dalam wadah yang telah disediakan. Sampel kemudian ditimbang dan dicatat. Setelah itu, sampel dituangkan ke dalam blender dan ditumbuk hingga halus, lalu disaring menggunakan saringan halus.



menggunakan ayakan 35 mesh untuk memperoleh bubuk kulit dan daun jagung yang siap digunakan pada tahap berikutnya. Sampel yang masih kasar dipisahkan dan dihaluskan kembali. Bubuk hasil ayakan dimasukkan ke dalam kantong plastik atau wadah kedap udara, kemudian disimpan di tempat yang kering dan sejuk untuk mencegah kontaminasi serta menjaga kualitasnya.

2.3.2 Pembuatan Media

Pembuatan Media Peremajaan Bakteri *Zymomonas Mobilis* Menggunakan Media Padat. Pembuatan medium dilakukan menggunakan media Nutrien Agar (NA) dengan metode agar miring. Medium NA ditimbang sebanyak 2,8 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 100 mL akuades. Erlenmeyer ditutup dengan kapas, lalu dipanaskan di atas *hotplate* hingga homogen. Setelah itu, medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL menggunakan spuit, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Selanjutnya, tabung reaksi dimiringkan menggunakan penyangga hingga media memadat dan siap digunakan sebagai media peremajaan.

Pembuatan Media Cair. Pembuatan medium cair untuk pertumbuhan bakteri dilakukan dengan dicampurkan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, CaCl_2 , MgSO_4 , K_2HPO_4 , FeSO_4 , dan *yeast extract* ke dalam 500 mL akuades, kemudian diaduk hingga homogen. Setelah itu, medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

Pembuatan Media Inokulum. Disiapkan dua erlenmeyer, untuk erlenmeyer pertama ditambahkan 2 gram bubuk daun jagung, sedangkan erlenmeyer kedua ditambahkan 2 gram bubuk kulit jagung. Masing-masing erlenmeyer ditambahkan 100 mL media cair yang telah dibuat. Selanjutnya, pH pada kedua erlenmeyer diatur menjadi pH 5, lalu mulut erlenmeyer ditutup menggunakan kapas. Setelah itu, media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.

Pembuatan Media Fermentasi. Disiapkan dua erlenmeyer, untuk erlenmeyer pertama ditambahkan 2 gram bubuk daun jagung, sedangkan erlenmeyer kedua ditambahkan 2 gram bubuk kulit jagung. Masing-masing erlenmeyer ditambahkan 150 mL media cair yang telah dibuat. Selanjutnya, pH media diatur menjadi 5, kemudian mulut erlenmeyer ditutup menggunakan kapas. Setelah itu, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm.



Bakteri *Zymomonas mobilis*

n Bakteri *Zymomonas Mobilis* Pada Media Padat. Biakan *ymonas mobilis* diinokulasikan kedalam media Nutrien Agar ose bulat secara aseptis, lalu diinkubasi di inkubator selama 37°C.

Peremajaan Bakteri *Zymomonas Mobilis* Pada Media Cair.

Peremajaan bakteri pada media cair dilakukan dengan cara diinokulasikan bakteri yang telah diremajakan pada media padat ke dalam media cair steril menggunakan ose bulat. Selanjutnya, bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam dengan bantuan *shaker rotator*.

2.3.4 Analisis Hemiselulosa, Selulosa, dan Lignin

Kadar Acid Detergent Fiber (ADF). Prosedur ini digunakan untuk mengukur kandungan serat kasar dalam sampel. Pada penelitian ini, sampel kulit dan daun jagung yang telah dihaluskan sebanyak 0,3 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 45 ml larutan ADF dan ditutup rapat. Tabung tersebut dimasukkan ke dalam air mendidih selama satu jam untuk melarutkan komponen yang tidak termasuk serat kasar. Setelah proses perebusan, campuran disaring menggunakan pompa vakum dengan kaca masir yang telah ditimbang sebelumnya (berat = b gram). Residu yang tertahan kemudian dicuci menggunakan aseton dan air panas untuk menghilangkan sisa larutan dan kotoran. Selanjutnya, residu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama delapan jam atau dibiarkan semalam hingga benar-benar kering. Setelah pengeringan, residu didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali (berat = c gram) untuk menentukan kadar ADF dalam sampel.

Kadar Neutral Detergent Fiber (NDF). Prosedur ini digunakan untuk mengukur kandungan serat kasar total dalam sampel, yaitu senyawa selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang merupakan komponen utama dinding sel tanaman. Sampel daun dan kulit jagung sebanyak 0,3 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 45 ml larutan NDF. Tabung tersebut dipanaskan dalam air mendidih selama satu jam agar komponen yang larut dalam larutan deterjen netral dapat terpisah dari serat kasar. Setelah itu, campuran disaring menggunakan pompa vakum dengan kaca masir yang telah ditimbang sebelumnya (berat = b gram). Residu hasil penyaringan dicuci dengan air panas dan aseton untuk menghilangkan sisa larutan dan kotoran. Residu kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C, didinginkan dalam desikator selama satu jam, dan ditimbang kembali untuk mendapatkan berat akhir residu (berat = c gram). Berat residu ini digunakan untuk menghitung kadar NDF dalam sampel, yang penting dalam menilai kualitas serat kasar dan potensi biomassa sebagai bahan baku fermentasi atau pakan.

Kadar Lignin dan Selulosa. Analisa kadar lignin dan selulosa dilakukan dengan menggunakan residu ADF (c gram) yang masih berada dalam kaca diletakkan di atas nampan berisi air setinggi 1 cm dan H₂SO₄ 72%, lalu dibiarkan selama tiga jam sambil sesekali , dilakukan penyaringan dan pencucian seperti pada tahap lu kemudian dikeringkan kembali dalam oven pada suhu dalam desikator, dan ditimbang sebagai e gram. Langkah masukkan ke dalam tanur pada suhu 500°C, didinginkan dalam



desikator, dan ditimbang kembali untuk mendapatkan berat akhir sebagai f gram. Data yang dihasilkan kemudian di hitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Acid Detergent Fiber (ADF)} = \frac{c-b}{a} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Neutral Detergent Fiber (NDF)} = \frac{c-b}{a} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Lignin} = \frac{e-f}{a} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Selulosa} = \% \text{ ADF} - \% \text{ lignin} - \% \text{ Abu tak larut}$$

$$\text{Kadar Hemiselulosa} = \% \text{ NDF} - \% \text{ ADF}$$

$$\text{Kadar Abu Tak Larut} = \frac{f-b}{a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat sample bahan kering

b = berat sintered glass kosong

c = berat sintered glass + residu penyaring setelah diovenkan

d = berat sampel asli

e = berat sintered glass + lignin + abu tak larut

f = berat sintered glass + abu tak larut setelah tanur

2.3.5 Perlakuan pendahuluan

Perlakuan pendahuluan dilakukan dalam tiga tahap, yaitu perlakuan basa, perlakuan asam, dan pemanasan. Sebanyak 130 gram bubuk daun dan kulit jagung ditimbang, kemudian dicampurkan dengan 1.200 mL larutan NaOH 3% dalam wadah kaca tertutup hingga seluruh sampel terendam. Campuran tersebut didiamkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah itu, sampel disaring menggunakan kain penyaring, lalu residunya dibilas dengan akuades hingga lignin terlepas, Proses pencucian dihentikan apabila cairan bilasan sudah jernih atau mencapai pH netral. Residu yang telah dicuci kemudian dimasukkan kembali ke dalam wadah dan ditambahkan 1.200 mL larutan H₂O₂ 3% hingga seluruh bagian terendam. Campuran diaduk, lalu dibiarkan semalaman dalam keadaan tertutup agar sisa lignin yang masih menempel dapat terlepas. Setelah libilas hingga air bilasan jernih, lalu dikeringkan di dalam oven 60°C selama semalaman. Sampel yang telah dikeringkan kemudian ditumbuk halus, dihaluskan kembali menggunakan blender, kemudian hasilnya dicatat. Selanjutnya, sampel disimpan dalam plastik tertutup.



2.3.6 Pembuatan Inokulum dan Produksi Bioetanol

Pembuatan Inokulum. Media yang telah disterilkan dipindahkan ke dalam ruang steril dan didiamkan hingga suhu turun dan media menjadi dingin. Selanjutnya, bakteri yang telah diinkubasi selama 48 jam diinokulasikan secara aseptis ke dalam masing-masing media inokulum sebanyak 16 mL. Setelah itu, media diinkubasi pada suhu ruang menggunakan shaker rotator selama 48 jam.

Produksi Bioetanol. Produksi bioetanol dilakukan dengan menambahkan media inokulum yang telah berhasil ditumbuhkan ke dalam media fermentasi yang telah disiapkan sebelumnya. Media fermentasi yang telah disterilkan dipindahkan ke ruang steril, lalu didiamkan hingga suhunya turun. Setelah dingin, sebanyak 20 mL media inokulum ditambahkan ke masing-masing erlenmeyer. Erlenmeyer kemudian ditutup kembali menggunakan kapas, lalu dimasukkan ke dalam *shaker rotator* dan diinkubasi selama 8 hari pada kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, pada hari ke-0, ke-4, dan ke-8, sampel sebanyak 5 mL diambil secara aseptis dari masing-masing erlenmeyer menggunakan spoit steril. Sampel tersebut kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer dan hasilnya dicatat. Pada hari ke-8, seluruh isi erlenmeyer disaring menggunakan kertas saring. Cairan yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca dan ditutup rapat untuk selanjutnya dilakukan proses destilasi guna memperoleh destilat etanol.

2.3.7 Destilasi

Peralatan destilasi dirangkai dan dinyalakan sesuai prosedur yang benar. Cairan hasil fermentasi yang telah disaring kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi. Proses pemanasan dijaga pada suhu 80°C dan berlangsung selama 8 jam hingga tidak ada lagi tetesan cairan yang keluar. Hasil destilasi tersebut kemudian didestilasi kembali sampai suhu pada 78°C hingga diperoleh hasil destilasi yang lebih murni.

2.3.8 Uji GC-MS (Gass Chromatography Mass-Spektrofotometry)

Pengujian GC-MS dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 0,5 mL menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 mL metanol. Hasil campuran dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit lalu di sonikasi pada suhu 65°C selama 20 menit, masukkan ke dalam vial lalu uji kromatografi menggunakan instrumen GC-MS Ultra QP 2010 Shimadzu. Kondisi instrumen dioperasikan pada suhu injektor 250°C dengan mode splitless, tekanan 76,9 kPa dan laju alir 1.4 mL/min dan rasio 1:10. Suhu sumber ion dan 280°C, waktu *solvent cut* 3 menit, 400-700 m/z. Jenis kolom panjang kolom 30 m dengan diameter dalam 0,25 mm. Suhu dengan waktu tahan 2 menit dan suhu dinaikkan hingga 200°C /min dan suhu akhir 280°C dengan waktu tahan 9 menit in sehingga total waktu analisa 30 menit. Data kromatogram



yang diperoleh diinterpretasi dengan menggunakan *library* NIST 20 pada aplikasi instrumen.



Optimized using
trial version
www.balesio.com