



Pengaruh Jenis Perlakuan Awal terhadap Konsentrasi Bioetanol Hasil Hidrolisis dan Fermentasi Tongkol Jagung menggunakan *Trichoderma reesei* dan *Saccharomyces cerevisiae*

Jasman^{1,*}, Ramadan M. Ahmad²

^{1,2}Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Cendana, Kupang-85001, Nusa Tenggara Timur, Indonesia

^{*}e-mail korespondensi: jasman@staf.undana.ac.id

Info Artikel:

Dikirim:

25 September 2021

Revisi:

21 Oktober 2021

Diterima:

5 Nopember 2021

Kata Kunci:

Perlakuan awal, bioetanol, tongkol jagung

Abstrak- Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis perlakuan awal pada tongkol jagung terhadap kadar gula dan etanol yang dihasilkan melalui hidrolisis enzim dengan *Trichoderma reesei* dan fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* serta mengetahui variasi perlakuan awal optimum untuk menghasilkan kadar glukosa dan kadar etanol yang tertinggi. Pelaksanaan meliputi: persiapan sampel, perlakuan awal, persiapan jamur *Trichoderma reesei*, hidrolisis, penentuan kadar glukosa, persiapan mikroba *S. cerevisiae*, fermentasi dan penentuan kadar etanol. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan tiga jenis perlakuan awal yaitu penggilingan (*milling*), penggodokan (*liquid hot water*), dan perlakuan basa (*alkali pretreatment*), dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Data pengaruh jenis perlakuan awal terhadap kadar gula dan kadar etanol dianalisis menggunakan ANOVA satu jalur dengan taraf kesalahan 5% dan uji lanjut menggunakan *tukey* dengan taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis perlakuan awal memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kadar gula yang dihasilkan dari hidrolisis dan kadar etanol yang hasil fermentasi. Dari ketiga variasi perlakuan awal, perlakuan basa menghasilkan kadar glukosa dan kadar etanol tertinggi.

PENDAHULUAN

Pada tahun 2010, diketahui jumlah konsumsi BBM di Indonesia sebesar 62.187.080,37 KL, dan pada tahun 2014 meningkat menjadi 70.744.977,00 KL. Jumlah kebutuhan yang besar tersebut tidak diimbangi kemampuan produksi bahan bakar minyak (BBM) yang setiap tahun semakin menurun. Jumlah produksi minyak bumi pada tahun 1996 adalah sebesar 548.648.300 barel. Lalu 18 tahun kemudian, pada tahun 2014 jumlah produksi minyak bumi Indonesia turun menjadi 287.902.200 barel atau mengalami penurunan sebesar 47,52% [1]. Sementara itu cadangan minyak bumi Indonesia diperkirakan hanya cukup sampai tahun 2025 [2].

Semakin menipisnya cadangan sumber energi yang tidak dapat diperbaharui ini mendorong pengembangan sumber energi baru dan terbarukan dalam beberapa tahun terakhir. Sumber energi terbarukan dihasilkan dari sumber daya yang berkelanjutan jika dikelola dengan baik [3]. Penelitian mengenai energi terbarukan penting untuk terus dikembangkan guna menjamin ketersediaan sumber energi di masa yang akan datang. Pengembangan energi baru terbarukan sudah menjadi salah satu program pemerintah untuk mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar minyak yang ketersediaannya terus berkurang. Salah satu sumber energi terbarukan yang berpotensi untuk dikembangkan adalah bioetanol. Bioetanol memiliki beberapa kelebihan dibandingkan bahan bakar minyak, yaitu memiliki kandungan oksigen yang tinggi sehingga terbakar lebih sempurna, bernilai oktan lebih tinggi, dan ramah lingkungan [4]. Produksi bioetanol dapat menggunakan bahan baku yang mengandung gula sederhana, bahan baku yang mengandung pati (*starch*), dan bahan baku yang mengandung lignoselulosa [5]. Bahan baku yang paling melimpah dan murah adalah bahan yang mengandung lignoselulosa, meliputi kayu keras seperti poplar dan eukaliptus, kayu lunak seperti pinus dan spruce, limbah pertanian seperti

jerami dan tongkol jagung, dan rumput-rumputan [6]. Bahan-bahan ini, terutama tongkol jagung, tersedia cukup melimpah di Pulau Timor, Nusa Tenggara Timur karena makanan pokok penduduk di pulau ini adalah jagung [7]; [8]. Oleh karena itu maka perlu dilakukan upaya untuk mengeksplor pemanfaatan bahan tersebut untuk memproduksi bioetanol.

Meskipun murah dan melimpah, ada tantangan besar untuk memproduksi bioetanol dari bahan lignoselulosa, yaitu sulitnya mengkonversi selulosa di dalam bahan tersebut menjadi etanol karena adanya komponen lignin yang sulit untuk diuraikan. Oleh karena itu bahan baku ini harus diberi perlakuan pendahuluan (*pretreatment*) untuk mendegradasi lignin dan struktur kristal selulosa sebelum lanjut ke proses hidrolisis dan fermentasi. Perlakuan pendahuluan dapat berupa perlakuan fisika, fisika-kimia, kimia, dan biologi. Perlakuan fisika antara lain berupa milling (penggilingan), perlakuan fisika-kimia dapat berupa penggodokan dengan asam sulfat, perlakuan kimia dapat berupa pengasaman atau penambahan alkali, dan perlakuan biologi dapat menggunakan beberapa jenis jamur seperti *Aspergillus niger* [9]. Perlakuan milling dapat mengurangi ukuran partikel, mengubah struktur serta tingkat kristalinitas lignoselulosa. Berbagai perubahan tersebut dapat membuat efektifitas enzim selulase pada bahan lignoselulosa meningkat [10]. Perlakuan panas (termal) dapat menghidrolisis parsial hemiselulosa, memodifikasi struktur lignin, meningkatkan luas permukaan, dan menurunkan kristalinitas selulosa dan derajat polimerisasinya [11]. Perlakuan kimia (basa) menyebabkan perubahan struktur lignin dengan cara mendegradasi ester dan rantai samping glikosidiknya. Penggunaan basa juga menyebabkan dekrystalisasi parsial selulosa, solvasi parsial hemiselulosa dan mengakibatkan selulosa membesar [12].

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau pemotong, blender, ayakan 60 mesh, panci, *laminar air flow*, *incubator*, pH meter, alkohol meter, refractometer, autoklaf dan labu destilasi, dan kondensor.

Bahan-bahan utama yang digunakan terdiri atas tongkol jagung, larutan buffer sitrat pH 3,5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaOH, gula pasir, CMC (*carboxy methyl cellulose*), ekstrak ragi (*yeast extract*), *Bacteriological peptone*.

Mikroorganisme

Jenis mikroorganisme yang digunakan adalah *Trichoderma reesei* (dari Laboratorium Mikrobiologi, Prodi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada) dan *Saccharomyces cerevisiae* (ragi roti Fermipan, France).

Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 1 faktor, yaitu variasi perlakuan awal yang dilambangkan dengan T sebagai faktor I dengan 3 taraf perlakuan yaitu T₁= Perlakuan Milling, T₂= Perlakuan Panas dan T₃= Perlakuan Basa. Setiap perlakuan dibuat dalam 3 ulangan.

Prosedur Kerja

Persiapan Sampel

Tongkol jagung dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3 hari. Setelah itu, dicacah hingga ukuran kurang lebih 0,25 cm³ dan dibagi menjadi tiga kelompok

Perlakuan Awal

Penggilingan (*milling*): Sampel kelompok 1 dihancurkan menggunakan alat blender hingga bahan tersebut berubah menjadi serbuk lalu diayak dengan ukuran 60 mesh [13].

Penggodokan (*liquid hot water*): Sampel kelompok 2 digiling kemudian digodok di dalam air panas pada suhu 100°C selama 60 menit menggunakan panji presto. Hasil godokan didinginkan dan disaring, lalu dikeringkan [14].

Perlakuan basa (*Alkali Pretreatment*): Sampel kelompok 3 digiling dan diayak dengan ayakan 60 mesh lalu hasilnya direndam dengan larutan NaOH 6% dengan perbandingan 1:10 (1gram:10 mL) selama 12 jam. Hasil rendaman kemudian disaring dan dicuci berulang kali hingga pH netral. Kondisi pH netral, jika air cucian tongkol jagung sama dengan pH aquades. Dalam kondisi pH netral bahan hasil perlakuan di keringkan [15].

Produksi enzim selulase dari jamur *Trichoderma reesei*

Isolat *T. reesei* diambil menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan, kemudian digoreskan pada permukaan media agar miring lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 5 hari. Setelah tumbuh pada agar miring, jamur tersebut diambil lagi menggunakan jarum ose steril lalu dimasukkan ke dalam larutan nutrisi di dalam labu Erlenmeyer. Larutan nutrisi ini dibuat dengan mencampurkan 1,0 g ekstrak ragi (*yeast extract*), 1,5 g *Bacteriological peptone*, 1,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2,0 g KH_2PO_4 , 0,005 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 5 mL larutan CMC (*Carboxy methyl cellulose*) 1% kemudian ditambah 5 mL larutan buffer sitrat pH 3-5 dan aquades secukupnya hingga volume larutan 100 mL. Larutan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen, lalu diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya erlenmeyer ditutup rapat menggunakan kapas dan diinkubasi selama 5 hari di *laminar air flow* sampai miselium jamur tumbuh. Setelah itu, campuran disentrifus dan supernatan yang diperoleh dijadikan sebagai larutan enzim selulase [16]

Hidrolisis Tongkol Jagung

Masing-masing dari ketiga kelompok tongkol jagung yang telah melewati perlakuan awal diambil 100 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL kemudian di tambahkan 500 mL aquadest. Selanjutnya pH campuran diatur antara 4 sampai 5 lalu diotoklaf pada 121°C selama 15 menit. Setiap kelompok sampel dibuat 3 kali ulangan (*triplo*). Setelah dingin, masing-masing campuran ditambahkan larutan enzim selulase sebanyak 25 mL, kemudian didiamkan selama 60 jam. Setelah itu, campuran disaring dan filtrat yang diperoleh dianalisis kadar glukosanya [17].

Penentuan kadar glukosa

Kadar glukosa sebagai hasil hidrolisis tongkol jagung ditentukan menggunakan metode refraktometri. Cara penggunaan dari alat refraktometer brix adalah refraktometer dibersihkan terlebih dahulu dengan tisu ke arah bawah. Sampel cairan diteteskan pada prisma 1-3 tetes, Skala kemudian dibaca pada bagian yang bercahaya. Dalam menentukan konsentrasi glukosa pada hasil hidrolisis, digunakan larutan glukosa standar dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 15%, dan 20%. Setiap konsentrasi larutan standar tersebut dan larutan hasil hidrolisis dibaca skalanya pada refraktometer. Data dari larutan standar digunakan untuk membuat kurva standar dan persamaan regresi dari kurva tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi glukosa di dalam hasil hidrolisis [18].

Fermentasi Hasil Hidrolisis

Sebanyak 250 mL hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berukuran 300 mL kemudian ditambahkan dengan 25 mL suspensi 5 gram ragi roti (*Fermipan*), 0,375 gram KH_2PO_4 , 0,375 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 gram *yeast extract*, dan 10 gram pepton ke dalam erlenmeyer tersebut. Selanjutnya campuran diaduk hingga homogen lalu Erlenmeyer ditutup dengan sumbat karet berlubang. Ke dalam lubang tersebut disisipkan selang plastik kecil yang ujungnya dimasukan kedalam air pada suatu gelas kimia. Selanjutnya campuran diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang [19]. Fermentasi dilakukan *triplo*.

Penentuan konsentrasi dan yield bioetanol

Filtrat dari masing-masing hasil fermentasi diambil sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam labu destilasi 500 mL kemudian ditambah dengan 100 mL aquadest lalu didestilasi hingga menghasilkan 100 mL destilat. Konsentrasi bioetanol di dalam destilat diukur dengan alkohol meter [20].

Yield bioetanol dihitung berdasarkan persamaan:

$$Yp/s = \frac{P-P_0}{S_0-S} \dots\dots\dots (1)$$

- Keterangan: Yp/s : yield berdasarkan konsentrasi produk dan substrat
P : konsentrasi bioetanol setelah fermentasi
P₀ : konsentrasi bioetanol sebelum fermentasi
S : konsentrasi substrat setelah fermentasi
S₀ : konsentrasi substrat sebelum fermentasi [21]

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA satu jalur dengan taraf signifikansi 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Deskripsi hasil perlakuan awal

Hasil perlakuan milling berupa serbuk halus tongkol jagung yang telah melewati saringan 60 mesh, berwarna coklat kekuningan sebagaimana tampak pada Gambar 1.



Gambar 1. Serbuk tongkol jagung hasil penggilingan (*milling*)

Tujuan perlakuan *milling* adalah untuk mengecilkan ukuran partikel substrat agar luas permukaannya bertambah sehingga mempercepat reaksi hidrolisis nantinya [22]. Selain itu perlakuan milling juga akan merusak struktur kristalin lignoselulosa sehingga mudah diakses oleh enzim maupun molekul air pada reaksi hidrolisis [23]. Perlakuan milling juga dapat memutuskan rantai polimer lignoselulosa sehingga sebagian molekul lignin dapat lepas dari selulosa dan hemiselulosa [24].

Hasil perlakuan penggodokan berupa bubur berwarna coklat dan air bekas godokannya juga berwarna coklat. Dengan penggodokan maka sebagian ikatan hidrogen yang mengikat lignin dengan hemiselulosa dan selulosa terputus sehingga fraksi lignin akan terlarut di dalam air sedangkan hemiselulosa dan selulosa tetap di dalam fraksi padat. Hal ini ditandai dengan banyaknya lignin yang terdeteksi di dalam fraksi cair [25]. Penggodokan dengan air lebih menguntungkan karena tidak terbentuknya inhibitor selama proses tersebut [26] dan tidak menyebabkan korosi pada wadah dan alat yang digunakan [27]. Warna coklat kemerahan pada air penggodok menunjukkan bahwa lignin yang terdapat pada tongkol jagung telah larut ke dalam air tersebut [28].

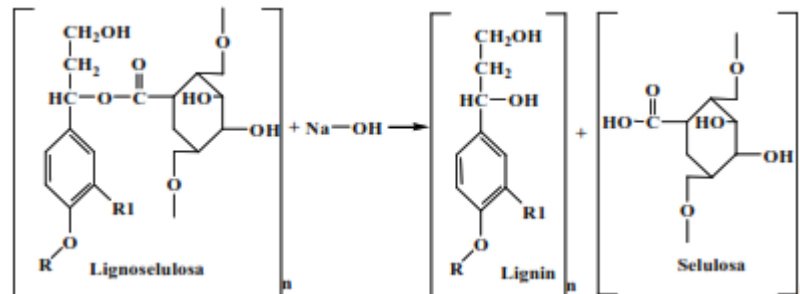
Perlakuan dengan basa memberikan hasil serupa dengan hasil penggodokan yaitu bubur berwarna coklat (Gambar 2) tetapi sisa pelarutnya lebih pekat). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan lignin yang ada di dalam tongkol jagung lebih banyak yang keluar dan masuk ke dalam pelarut [28].



Gambar 2. Bubur tongkol jagung hasil perlakuan dengan basa

Perendaman menggunakan pelarut NaOH bertujuan untuk merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf serta memisahkan sebagian hemiselulosa. Hemiselulosa memiliki struktur amorf sehingga penggunaan NaOH dapat menghilangkan lignin sekaligus mengekstraksi hemiselulosa [29].

Reaksi pemutusan antara selulosa dan lignin dengan adanya NaOH (basa) dapat ditunjukkan seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi lignoselulosa dengan NaOH [30]

Ion OH^- dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion Na^+ akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat. Garam fenolat ini bersifat mudah larut. Lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam pada larutan yang disebut lindi hitam (*black liquor*) [29].

Hasil hidrolisis

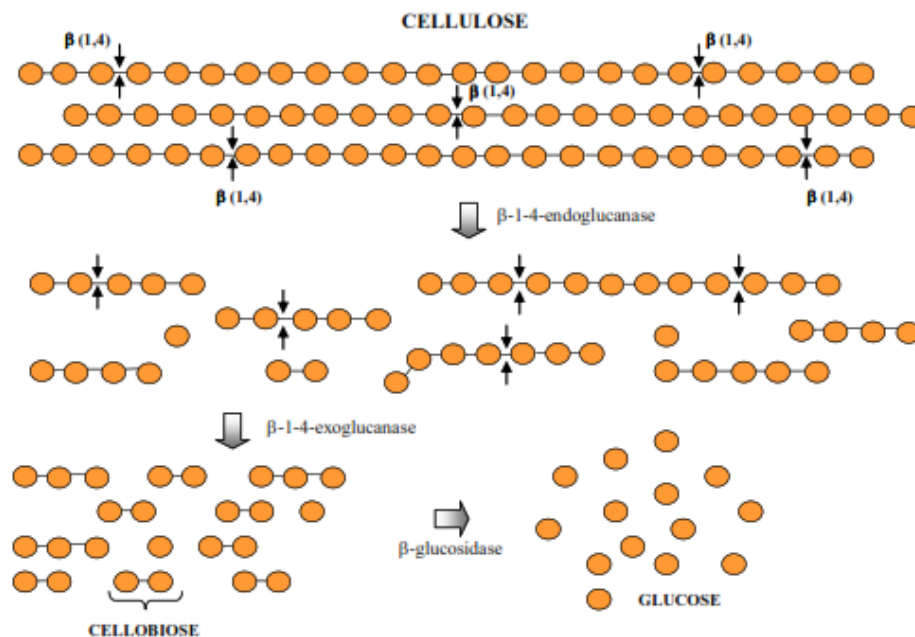
Hasil hidrolisis terhadap ketiga kelompok substrat adalah glukosa yang konsentrasinya dapat dilihat pada Tabel 1. Analisis data dengan *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Tukey* menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang sangat nyata dari variasi perlakuan awal terhadap kadar glukosa yang dihasilkan. Konsentrasi glukosa tertinggi dicapai pada perlakuan dengan basa.

Pada dasarnya mekanisme pemotongan rantai ikatan oleh enzim selulase sangat kompleks karena melibatkan sinergitas kerja 3 komponen besar yaitu endo-1,4- β -D-glukanase yang berfungsi memutuskan ikatan selulosa secara random dengan memulai serangan acak pada sisi internal daerah amorf dari serat selulosa sehingga sisi yang terbuka dapat diserang oleh *cellobiohydrolase*. Kemudian kerja dari ekso- β -1,4-glukanase yang memotong ujung-ujung rantai individu selulosa. ekso- β -1,4-glukanase atau disebut *cellobiohydrolase* menyerang bagian luar *non-reducing* dari selulosa sehingga dihasilkan selobiosa sebagai struktur utamanya. Selanjutnya adalah kerja dari β -glukosidase yang berfungsi memotong selobiosa menjadi molekul-molekul glukosa. Mekanisme reaksinya dapat dilihat pada gambar 4.

Tabel 1. Konsentrasi glukosa (%) yang dihasilkan dari hidrolisis tongkol jagung hasil perlakuan awal

No	Perlakuan awal	Ulangan	% glukosa	Rata - rata
1	Penggilingan	1	4,5	5,02
		2	5,28	
		3	5,28	
2	Penggodokan	1	6,84	7,36
		2	7,62	
		3	7,62	
3	Basa	1	9,96	9,96
		2	9,96	
		3	9,96	

Fungsi dari perlakuan awal adalah memudahkan enzim untuk mengakses molekul-molekul selulosa dengan cara menghilangkan komponen penghambat yaitu lignin serta srtuktur kristalinitas dari polimer lignoselulosa. Meskipun perlakuan awal sama-sama dapat menurunkan kadar lignin dan dapat meningkatkan konsentrasi glukosa hasil hidrolisis, perlakuan milling dan perlakuan panas belum seefektif perlakuan basa. Belum optimalnya perlakuan milling dikarenakan perlakuan milling hanya mampu mengurangi ukuran partikel, mengubah ultrastruktur serta tingkat kristalinitas lignoselulosa dan hanya mampu menghilangkan sedikit kandungan lignin [31]. Masih terdapatnya kandungan lignin ini yang mengakibatkan terhambatnya aktivitas enzim pada proses hidrolisis selulosa. Sementara itu, penggodokan dengan air panas hanya mampu menghilangkan lignin antara 30-60% [14]. Sedangkan perlakuan basa dengan NaOH 1% pada bagas tebu mampu menghilangkan lignin sekitar 92,7% [32].



Gambar 4. Mekanisme hidrolisis selulosa dengan enzim selulase [33]

Hasil fermentasi

Konsentrasi etanol dari hasil fermentasi hidrolisat tongkol jagung dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Konsentrasi etanol hasil fermentasi dari tongkol jagung yang telah diberikan perlakuan awal berbeda.

No	Perlakuan awal	Ulangan	Konsentrasi Etanol (%m/v)	Rata-rata konsentrasi etanol	Rata-rata Yield Etanol (p/s)
1	Penggilingan	1	1,5	1,7	0,34
		2	1,5		
		3	2,0		
2	Penggodokan	1	4,0	3,7	0,50
		2	3,5		
		3	3,5		
3	Basa	1	4,5	5,0	0,50
		2	5,5		
		3	5,0		

Hasil fermentasi menunjukkan bahwa perlakuan basa memberikan hasil terbaik disusul oleh perlakuan penggodokan dan kemudian perlakuan penggilingan. Hasil ini juga sejalan dengan hasil hidrolisis pada Tabel 1 dimana makin tinggi konsentrasi gula pereduksi hasil hidrolisis makin tinggi pula konsentrasi etanol hasil fermentasinya. Bila dibandingkan antara hasil fermentasi dengan hasil hidrolisis, tampak bahwa yield etanol produk terhadap substrat(p/s) yang diperoleh berkisar antara 0,34 – 0,50 dengan rata-rata 0,45. Nilai yield teoritis yang dihitung secara stoikiometri dari persamaan reaksi konversi glukosa ke etanol adalah 0.51, lebih tinggi daripada nilai rata-rata yang diperoleh dalam penelitian ini. Dengan membandingkan rata-rata yield etanol yang diperoleh dengan yield teoritis maka diperoleh efisiensi fermentasi sebesar 88,23%. Nilai ini lebih rendah daripada yang diperoleh pada fermentasi etanol dari bagas tebu menggunakan *Zimomonas Mobilis*, yaitu sebesar 93,9% [34] tapi lebih tinggi daripada yang diperoleh pada fermentasi etanol dari tetes tebu, yaitu sebesar 65% [35]. Ini berarti tidak semua gula yang ada dalam fermentor dikonversi menjadi etanol, sebagian molekul gula digunakan untuk pertumbuhan sel dan sebagian lagi untuk mensintesis senyawa lain [19]. Faktor lain yang menyebabkan efisiensi fermentasi tidak maksimal antara lain adalah adanya senyawa inhibitor di dalam campuran fermentasi yang meracuni sel-sel khamir. Inhibitor bisa berasal dari hasil *pretreatment* bahan baku, misalnya furfural, hidroksimetilfurfural, senyawa-senyawa fenolik, dan asam humat [36].

KESIMPULAN

Jenis perlakuan awal yang dibeikan kepada substrat (tongkol jagung) jelas mempengaruhi jumlah gula yang diperoleh dari hidrolisis substrat tersebut serta jumlah etanol yang dihasilkan pada fermentasinya. Kombinasi lebih dari satu jenis perlakuan yang diberikan cenderung memberikan hasil hidrolisis yang lebih banyak dan sekaligus hasil fermentasi yang lebih banyak pula. Masih banyak jenis perlakuan awal serta kombinasinya yang potensial untuk diterapkan pada pembuatan bioetanol dari tongkol jagung.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Badan Pusat Statistik, “Produksi Minyak Bumi dan Gas Alam 1996-2019,” 2021. bps.go.id/statistictable/2009/06/15/1092/produksi-minyak-bumi-dan-gas-alam-1996-2019.html (accessed Nov. 02, 2021).
- [2] Yudiarto, Anindhita, A. Sugiyono, L. M. A. Wahid, and Adiarso, “Outlook Energy Indonesia 2018,” *Pusat Pengajian Industri Proses Energi*, vol. 53, no. 9. pp. 1–94, 2016.
- [3] “Renewable Energy: An Overview,” *the National Renewable Energy Laboratory (NREL)*, 2001. <https://www.nrel.gov/docs/fy01osti/27955.pdf> (accessed Nov. 02, 2021).
- [4] I. G. Y. Wikrama Yuda, I. M. Mahaputra Wijaya, and N. P. Suwariani, “Studi Pengaruh pH Awal Media dan Konsentrasi Substrat Pada Proses Fermentasi Produksi Bioetanol Dari Hidrolisat Tepung Biji Kluwih (*Actinocarpus communis*) Dengan Menggunakan *Saccharomyces*

- cerevisiae*,” *J. Rekayasa Dan Manaj. Agroindustri*, vol. 6, no. 2, p. 115, 2018, doi: 10.24843/jrma.2018.v06.i02.p03.
- [5] J. Jasman, “Peningkatan Hasil Fermentasi Bioetanol Dari Nira Sorgum Manis (*Sorghum bicolor* L. Moench) Dengan Menggunakan Biakan Campuran Dua Galur Khamir,” Gadjah Mada University, 2014.
- [6] F. H. Isikgor and C. R. Becer, “Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers,” *Polym. Chem.*, vol. 6, no. 25, pp. 4497–4559, 2015, doi: 10.1039/c5py00263j.
- [7] A. P. dan S. Yusuf, “Jagung Makanan Pokok Untuk Mendukung Ketahanan,” *Semin. Nas. Serealia*, pp. 543–549, 2013.
- [8] D. Puspita, D. E. Fuka, and S. Notoesoedarmo, “Pengetahuan Lokal Masyarakat Timor dalam Upaya Menjaga Ketahanan Pangan Melalui Pangan Lokal,” *Cakrawala*, vol. 6, no. 1, pp. 75–92, 2017, [Online]. Available: <https://ejournal.uksw.edu/cakrawala/article/view/1288>.
- [9] K. Eisenhuber, K. Krennhuber, V. Steinmüller, and A. Jäger, “Comparison of different pre-treatment methods for separating hemicellulose from straw during lignocellulose bioethanol production,” *Energy Procedia*, vol. 40, pp. 172–181, 2013, doi: 10.1016/j.egypro.2013.08.021.
- [10] M. J. Taherzadeh and K. Karimi, *Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review*, vol. 9, no. 9. 2008.
- [11] L. Pereira Ramos, “The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials,” *Quim. Nova*, vol. 26, no. 6, pp. 863–871, 2003, doi: 10.1590/s0100-40422003000600015.
- [12] V. Menon and M. Rao, “Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept,” *Prog. Energy Combust. Sci.*, vol. 38, no. 4, pp. 522–550, 2012, doi: 10.1016/j.peccs.2012.02.002.
- [13] F. R. Amin *et al.*, “Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion,” *AMB Express*, vol. 7, no. 1, 2017, doi: 10.1186/s13568-017-0375-4.
- [14] A. Maria, A. M. R. Galletti, and C. A. Raspolli Galletti, “Biomass pre Biomass pre-treatment: separation of cellulose, hemicellulose and treatment: separation of cellulose, hemicellulose and lignin. Existing technologies and perspectives,” 2011, [Online]. Available: http://www.eurobioref.org/Summer_School/Lectures_Slides/day2/Lectures/L04_AG_Raspolli.pdf.
- [15] M. S. Mafa, S. Malgas, A. Bhattacharya, and K. Rashamuse, “The Effects of Alkaline Pretreatment on Agricultural Biomasses (Corn Cob and Sweet Sorghum Bagasse),” *Agronomy*, vol. 10, no. 1211, pp. 1–13, 2020.
- [16] P. Wahyuningtyas, B. D. Argo, and W. A. Nugroho, “Studi Pembuatan Enzim Selulase Dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* Dengan Substrat Jerami Padi Sebagai Katalis Hidrolisis Enzimatik Pada Produksi Bioetanol,” *J. Bioproses Komod. Trop.*, vol. 1, no. 1, pp. 21–25, 2013.
- [17] N. W. F. Sina, A. A. Sukmaria, and S. Redjeki, “Studi Kinetika Reaksi Fermentasi Selulosa Tongkol Jagung Menggunakan Enzim Selulase pada Reaktor Batch,” *J. Chem. Procces Eng.*, vol. 1, no. 2, pp. 14–19, 2020.
- [18] M. Misto, T. Mulyono, and B. E. Cahyono, “Determination of Sucrose Content in Sugarcane Liquids Through Angular Dispersion Angle Measurement,” *J. ILMU DASAR*, vol. 20, no. 2, p. 89, 2019, doi: 10.19184/jid.v20i2.8497.
- [19] J. Jasman, I. D. Prijambada, C. Hidayat, and D. Widiyanto, “Selection of Yeast Strains for Ethanol Fermentation of Glucose-FructoseSucrose Mixture,” *Indones. J. Biotechnol.*, vol. 17, no. 2, p. 114, 2015, doi: 10.22146/ijbiotech.16001.
- [20] R. Liu, J. Li, and F. Shen, “Refining bioethanol from stalk juice of sweet sorghum by immobilized yeast fermentation,” *Renew. Energy*, vol. 33, no. 5, pp. 1130–1135, 2008, doi:

- 10.1016/j.renene.2007.05.046.
- [21] L. Riadi, *Teknologi Fermentasi*, 1st ed. Yogyakarta: Graha Ilmu, 2007.
- [22] M. R. Hidayat, "Teknologi Pretreatment Bahan Lignoselulosa," *Biopropal Ind.*, vol. 4, no. 1, pp. 33–48, 2013.
- [23] X. Yuan *et al.*, "Effects of ball milling on structural changes and hydrolysis of lignocellulosic biomass in liquid hot-water compressed carbon dioxide," *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 33, no. 7, pp. 2134–2141, 2016, doi: 10.1007/s11814-016-0044-3.
- [24] A. Barakat, C. Mayer-Laigle, A. Solhy, R. A. D. Arancon, H. De Vries, and R. Luque, "Mechanical pretreatments of lignocellulosic biomass: Towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production," *RSC Adv.*, vol. 4, no. 89, pp. 48109–48127, 2014, doi: 10.1039/c4ra07568d.
- [25] M. A. Martín-Lara, L. Chica-Redecillas, A. Pérez, G. Blázquez, G. Garcia-Garcia, and M. Calero, "Liquid Hot Water Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis as a Valorization Route of Italian Green Pepper Waste to Delivery Free Sugars," *Foods*, vol. 9, no. 11, p. 1640, 2020, doi: 10.3390/foods9111640.
- [26] N. Mosier *et al.*, "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass," *Bioresour. Technol.*, vol. 96, no. 6, pp. 673–686, 2005, doi: 10.1016/j.biortech.2004.06.025.
- [27] J. A. Pérez, I. Ballesteros, M. Ballesteros, F. Sáez, M. J. Negro, and P. Manzanares, "Optimizing Liquid Hot Water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel-ethanol production," *Fuel*, vol. 87, no. 17–18, pp. 3640–3647, 2008, doi: 10.1016/j.fuel.2008.06.009.
- [28] A. Pramana, M. N. Cahyanto, H. Adhianata, and Y. Zalfiatri, "Karakteristik Fisik Lignin pada Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit PT. Tunggal Perkasa Plantations Provinsi Riau Menggunakan Metode Organosolv," *J. Pengendali. Pencemaran Lingkungan*, vol. 2, no. 1, pp. 43–49, 2020, doi: 10.35970/jpppl.v2i1.153.
- [29] N. I. Safaria, Selviza and T. A. Zaharah, "Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari *Aspergillus Niger* Dan *Trichoderma Reesei* Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa," *JKK*, vol. 2, no. 1, pp. 46–51, 2013.
- [30] Y. He, Y. Pang, Y. Liu, X. Li, and K. Wang, "Physicochemical characterization of rice straw pretreated with sodium hydroxide in the solid state for enhancing biogas production," *Energy and Fuels*, vol. 22, no. 4, pp. 2775–2781, 2008, doi: 10.1021/ef8000967.
- [31] U. Mais, A. R. Esteghlalian, J. N. Saddler, and S. D. Mansfield, "Enhancing the Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Materials Using Simultaneous Ball Milling," *Biotechnol. Fuels Chem.*, no. June, pp. 815–832, 2002, doi: 10.1007/978-1-4612-0119-9_66.
- [32] S. G. Karp, A. L. Woiciechowski, V. T. Soccol, and C. R. Soccol, "Pretreatment strategies for delignification of sugarcane bagasse: A Review," *Brazilian Arch. Biol. Technol.*, vol. 56, no. 4, pp. 679–689, 2013, doi: 10.1590/S1516-89132013000400019.
- [33] S. Mussatto and J. Teixeira, "Lignocellulose as raw material in fermentation processes," *Appl. Microbiol. an Microb. Biotechnol.*, vol. 2, no. January, pp. 897–907, 2010, [Online]. Available: <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/16762%5Cnwww.formatex.info>.
- [34] A. Ernes, L. Ratnawati, A. K. Wardani, and J. Kusnadi, "OPTIMASI FERMENTASI BAGAS TEBU OLEH *Zymomonas mobilis* CP4 (NRRL B-14023) UNTUK PRODUKSI BIOETANOL (Optimization of Sugarcane Bagasse Fermentation by *Zymomonas mobilis* CP4 (NRRL B-14023) for Bioethanol Production)," *J. Agritech*, vol. 34, no. 03, p. 247, 2014, doi: 10.22146/agritech.9452.
- [35] A. K. Wardani, F. Nurtyastuti, and E. Pertiwi, "Ethanol Production From Cane Molasses by *Saccharomyces Cerevisiae*," *Agritech*, vol. 33, no. 2, pp. 131–139, 2013, [Online]. Available: <https://media.neliti.com/media/publications/101022-ID-produksi-etanol-dari-tetes-tebu-oleh-sac.pdf>.

- [36] G. Vanmarcke, M. M. Demeke, M. R. Foulquié-Moreno, and J. M. Thevelein, "Identification of the major fermentation inhibitors of recombinant 2G yeasts in diverse lignocellulose hydrolysates," *Biotechnol. Biofuels*, vol. 14, no. 1, pp. 1–15, 2021, doi: 10.1186/s13068-021-01935-9.