

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tebu dan Mikroorganisme dalam Perspektif Islam

Tebu merupakan salah satu jenis tanaman yang mempunyai potensi sebagai sumber daya alam yang besar di Indonesia. Selain kondisi iklim yang cocok, tebu juga banyak ditanam di sejumlah lahan pertanian. Allah SWT telah berfirman dalam Q.S. 'asy-Syu'ara [26]: 7, yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”.

Al-Dimasyqi dalam *Tafsirnya Ibnu Katsir* (2004), makna (كَمَا أَنْبَتْنَا) “berapakah banyaknya tumbuh-tumbuhan,” dalam al-Qur’an memang tidak disebutkan satu persatu nama tumbuhan yang diturunkan di bumi, salah satunya yaitu tanaman tebu. Makna (زَوْجٍ) “berpasangan,” jadi makna (كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ) “berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang berpasangan.” Artinya setiap tumbuhan yang diturunkan di bumi pasti mengandung dua hal yang berbeda. Tebu misalnya, disamping mengandung nilai manfaat sebagai bahan utama pembuatan gula, tetapi gula bisa menyebabkan penyakit diabetes, dibalik itu cairan tebu dapat mengobatinya. Begitu pula kapang dari segi kerugian banyak menjadi penyebab kerusakan pangan, tetapi juga termasuk mikroba yang penting dalam industri makanan.

Al-Qur'an banyak menyebutkan tentang tumbuh-tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia. Sebagaimana Firman Allah dalam Q.S. Al-An'am [06] : 141, yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرِ مَّعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُمُ وَالزَّيْتُونَ وَالزَّمَانَ مِثْلَهَا وَغَيْرِ مِثْلِهِ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴿١٤١﴾

Artinya: “Dan Dia-lah yang menciptakan kebun-kebun yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa dan tidak serupa. Makanlah dari buahnya ketika ia berbuah, dan tunaikanlah haknya pada hari panennya. Dan janganlah kamu berlebih-lebihan, karena sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.”

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), makna (جَنَّاتٍ) “kebun-kebun,” (مَّعْرُوشَاتٍ) “yang berjunjung,” maksudnya yang membentang di atas tanah, seperti semangka (وَ) (غَيْرِ مَّعْرُوشَاتٍ) “dan yang tidak berjunjung,” maksudnya batangnya menjulang ke atas, seperti kurma, (وَ) “dan,” menciptakan (النَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ) “pohon kurma, tanaman-tanaman yang bermacam-macam makanannya,” maksudnya bermacam-macam buah dan bijinya dalam hal bentuk dan rasanya.

Dalam ayat ini Allah SWT menyatakan Dia-lah Pencipta yang menjadikan segala sesuatu seperti halnya tanaman tebu yang bermanfaat untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber pangan (energi) bagi manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Tanaman tebu tidak disebutkan secara jelas dalam al-Qur'an, tetapi tanaman tebu termasuk salah satu

tumbuhan yang mempunyai manfaat bahkan limbahnya yaitu bagas tebu bisa dimanfaatkan sebagaimana Allah SWT telah berfirman dalam Q.S. Shaad [38]: 27 , yang berbunyi:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ۚ ذَلِكَ ظُنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۖ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنْ

النَّارِ ﴿٣٨﴾

Artinya: “Dan tidaklah kami menciptakan langit dan bumi beserta isinya dengan sia-sia. Itu adalah anggapan orang-orang kafir, Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.”

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), makna (بطلاً) “sia-sia”. Jadi maksud kalimat di atas, Allah SWT tidak akan menurunkan sesuatu di bumi ini dengan sia-sia seperti halnya limbah bagas tebu. Limbah bagas tebu akan bermanfaat jika dikelola dengan baik, salah satunya adalah dimanfaatkan sebagai bioetanol yang ramah lingkungan.

Selain mengkaji sumberdaya tumbuhan, Islam juga menganjurkan untuk mengkaji hewan, dan mikroorganismenya sebelumnya telah dijelaskan oleh Allah SWT dalam QS. Yunus [10]: 61, yang berbunyi:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ ۚ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ

وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٦١﴾

Artinya: “Dan kamu tidak berada dalam suatu keadaan dan tidak membaca (satu ayat) dari Al Quran maupun mengerjakan suatu pekerjaan, melainkan Kami akan menjadi saksi atas kamu ketika kamu melakukannya. Dan tidak luput dari (pengetahuan) Tuhanmu biarpun sebesar dzarrah (atom) di bumi ataupun di langit. Dan tidaklah apa yang lebih kecil dari itu maupun

yang lebih besar (dari itu) melainkan (tercatat) dalam kitab yang nyata (Lauh mahfuzh).”

Menurut *Tafsir Jalalain* (2010), menjelaskan makna (ذَّرَّةٌ) “dzarrah.” Kalimat (ذَّرَّةٌ) merupakan binatang terkecil yang disebutkan dalam al-Qur’an. Dalam konteks biologi kata (ذَّرَّةٌ) bisa diterjemahkan sebagai mikroorganisme yaitu kapang dan bakteri. Mikroorganisme tidak bisa dilihat dengan mata telanjang namun hanya bisa dilihat dengan bantuan mikroskop. Allah Yang Maha Bijaksana dan Maha Mengetahui. Jadi, sekalipun contoh mikroorganisme, Allah SWT tidak akan meninggalkannya, misalnya jika dibutuhkan dan dapat mendatangkan hikmah serta maslahat bagi orang-orang yang sudah terbiasa melakukan kebaikan, sadar, dan mempunyai pandangan secara seksama, maka ketika mendengar perumpamaan tersebut mereka justru mendapatkan suatu petunjuk dan inspirasi, karena mereka selalu menghargai sesuatu sesuai dengan manfaatnya.

2.2 Tebu

2. 2.1 Taksonomi

Klasifikasi tanaman tebu menurut Plantamor (2012) adalah sebagai berikut :

Kingdom Plantae

Divisi Magnoliophyta

Kelas Liliopsida

Sub Kelas Commelinidae

Ordo Poales

Famili Poaceae

Genus Saccharum

Spesies *Saccharum officinarum* L. (Gambar 2.1)



Gambar 2.1 Tebu (*Saccharum officinarum* L.) (Dokumentasi Pribadi, 2014).

Nama lokal tebu (*Saccharum officinarum* L.) antara lain Sugar cane (Inggris), Tebu (Jawa, Bali, dan Lampung), Rosan (Jawa), Tiwu (Sunda), Tebhu (Madura), Isepan (Bali), Teubee (Aceh), Tewu (Nias, Flores), Atihu (Ambon) (Arisandi dan Andriani, 2008).

2.2.2 Deskripsi Tanaman

Tebu termasuk keluarga Gramineae (rumput-rumputan), berkembang biak di daerah beriklim sedang sampai panas yang mempunyai ketinggian tanah 1 sampai

1300 m dpl. Di Indonesia terdapat beberapa jenis tebu, diantaranya tebu hitam (Cirebon), tebu kasur, POJ 100, POJ 2364, EK 28, POJ 2878. Setiap jenis tebu memiliki ukuran batang serta warna yang berlainan. Tebu termasuk tumbuhan berbiji tunggal. Tinggi tumbuhan tebu berkisar pada 2-4 m. Batang pohon tebu terdiri dari banyak ruas dan setiap ruasnya dibatasi buku-buku sebagai tempat duduk daun, bentuk daun berwujud helaian dengan pelepah, panjangnya dapat mencapai 1-2 m, lebar 4-8 cm dengan permukaan kasar dan berbulu. Bunganya merupakan bunga majemuk yang berbentuk malai. Akarnya berbentuk serabut (Arisandi dan Andriani, 2008). Menurut Steenis (2006), batang dengan mata akar pada ruas, kerap kali kuning, ungu, coklat, atau merah, atau bergaris dan sering dijumpai berlilin.

2.3 Bagas Tebu

Bagas tebu adalah hasil samping dari proses ekstraksi (pemerahan) cairan tebu (Andaka, 2011). Menurut Samsuri dkk (2007), yaitu limbah padat pada proses pengolahan menjadi gula, yang sejauh ini masih belum banyak dimanfaatkan menjadi produk yang mempunyai nilai tambah. Andriyanti (2012), menjelaskan komposisi kimia bagas tebu meliputi zat arang atau karbon (C) 23,7 %, hidrogen (H) 2 %, oksigen (O) 20 %, air (H₂O) 50 %, dan gula 3%. Bagas tebu mengandung kadar air sekitar 46-52%, kadar serat 43-52%, dan padatan terlarut sekitar 2-6%.

Binoto dkk (2009), menjelaskan bahwa bagas tebu adalah biomassa berselulosa yang merupakan material yang sulit didegradasi dan dikonversi dibandingkan material berbahan dasar dari pati. Bagas sebagian besar mengandung

lignoselulosa (Andaka, 2011). Lignoselulosa (lignin = zat kayu) merupakan bahan campuran antara lignin, hemiselulosa, dan selulosa yang memperkuat sel-sel kayu (Dwidjoseputro, 1994). Menurut Baarri dan Fawaid (2013), bagas tebu merupakan bahan berbasis lignoselulosa yang memiliki substrat cukup kompleks karena didalamnya terkandung lignin, polisakarida, zat ekstraktif, dan senyawa organik lainnya. Dalam kaitan konversi biomassa seperti bagas menjadi bioetanol, bagian yang terpenting adalah polisakarida, karena polisakarida tersebut akan dihidrolisis menjadi monosakarida seperti glukosa, sukrosa, xilosa, dan arabinosa sebelum dikonversi menjadi alkohol. Diperkirakan kandungan polisakarida mencapai lebih dari 70% yang terbagi atas selulosa 50%-55% dan hemiselulosa 15%-20%. Kandungan lignin diperkirakan hanya sekitar 20-30%. Pada biomassa lignoselulosa, hanya selulosa dan hemiselulosa yang bisa diolah menjadi monosakarida untuk pembuatan etanol. Artati dkk (2010), komponen serat bagas tebu terdiri dari hemiselulosa 20–32,2%, selulosa 40,3–55,35%, dan lignin 11,2–15,27%. Samsuri dkk (2007), juga menyebutkan dalam hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kandungan lignoselulosa pada bagas sekitar 52,7% selulosa, 20% hemiselulosa, dan 24,2% lignin.

Bagas tebu dapat menghasilkan monomer gula dengan proses hidrolisis enzimatis. Serat bagas tidak dapat larut dalam air dan sebagian besar terdiri dari selulosa, pentosan, dan lignin. Dwidjoseputro (1994), menjelaskan bahwa pentosan merupakan polisakarida yang terdiri atas molekul-molekul pentosa. Selulosa terdiri

atas molekul-molekul heksosa sedangkan hemiselulosa terdiri atas heksosa dan pentosa.

2.4 Produksi Bioetanol dari Bagas Tebu

Bioetanol dapat diproduksi dari bahan yang mengandung glukosa, amilum, dan selulosa. Konversi gula-gula sederhana menjadi etanol cukup mudah, sedangkan untuk bahan yang mengandung pati dan selulosa lebih sulit, khususnya limbah lignoselulosa yang tersedia sangat melimpah, mudah didapat, murah, dan belum dimanfaatkan secara optimal. Limbah lignoselulosa berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku produksi energi terbarukan di masa depan (Gunam dkk, 2011). Menurut Ketut (2011), etanol sering juga disebut etil alkohol adalah alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol dapat diproduksi secara fermentasi dari bahan baku yang mengandung gula atau secara sintesis dapat juga diproduksi dari turunan minyak bumi.

Bioetanol tidak saja menjadi alternatif yang sangat menarik untuk substitusi bensin dan mampu menurunkan emisi CO₂. Pada dasarnya pembakaran bioetanol tidak menciptakan CO₂ netto ke lingkungan karena zat yang sama akan diperlukan untuk pertumbuhan tanaman sebagai bahan baku bioetanol. Bioetanol bisa didapat dari tanaman seperti tebu, jagung, gandum, singkong, padi, lobak, dan gandum hitam (Raposo, 2009).

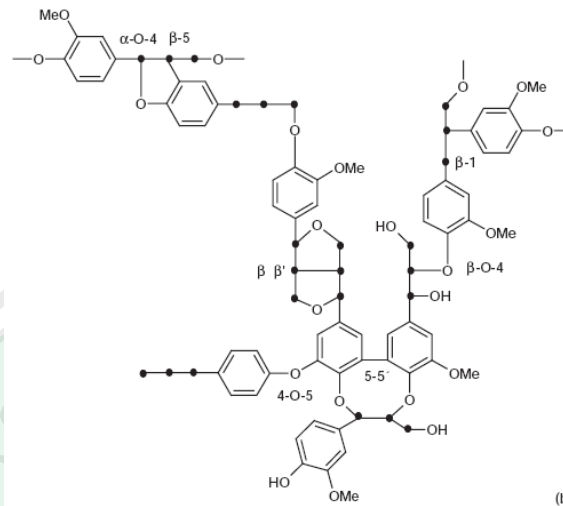
Pada dasarnya proses pembuatan bioetanol dari bagas tebu mengacu pada metode HFT (Hidrolisis Fermentasi Terpisah) yang dilakukan melalui dua tahap yang

terpisah yaitu tahap hidrolisis dan fermentasi (Sendelius, 2005). Bagas tebu memiliki struktur lignoselulosa yang lebih sulit diuraikan dibandingkan dari bahan mengandung pati seperti ubi jalar sehingga proses pembuatan bioetanol dari bagas tebu ini rumit karena harus mendapatkan perlakuan delignifikasi. Produksi bioetanol pada umumnya dari bahan berselulosa seperti bagas tebu yang terdiri dari 4 tahapan, yaitu perlakuan awal (delignifikasi), hidrolisis bagas tebu secara enzimatik untuk menghasilkan glukosa, fermentasi untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol, dan pemurnian bioetanol hasil fermentasi (destilasi) (Rahmawati, 2011).

2.4.1 Delignifikasi

Proses delignifikasi adalah proses penghilangan lignin. Tujuannya adalah untuk membuka struktur rapat dari bahan lignoselulosa agar air dan enzim selulase dapat mencapai selulosa. Proses ini juga akan mempertegas perbedaan karakteristik selulosa, hemiselulosa dan lignin (Harimurti, 2010).

Lignin adalah heteropolimer amorf yang terdiri dari tiga unit fenilpropan (p-coumaryl, coniferil dan sinapyl alkohol) yang terikat dengan ikatan yang berbeda. Fungsi utama lignin adalah memperkuat struktur tanaman dalam menahan terhadap serangan mikroba dan tekanan oksidasi, di dalam jaringan tanaman, lignin sulit didegradasi karena mempunyai struktur yang kompleks dan heterogen yang berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa (Anindyawati, 2010).

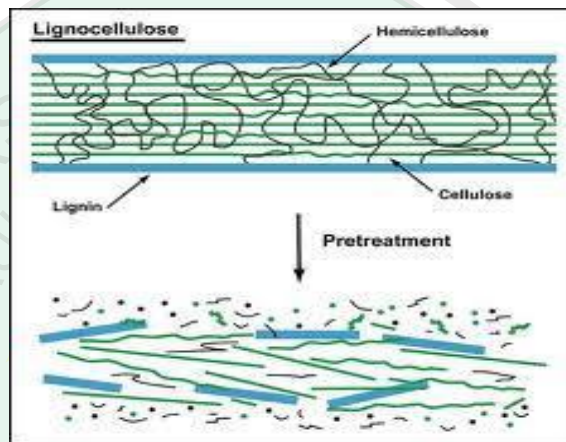


Gambar 2.2 Struktur Lignin (Sixta, 2006).

Pada proses delignifikasi ada berbagai cara antara lain proses mekanik, semikimia, kimia, dan biologi (Ronggur, 2009). Delignifikasi menurut Harimurti (2010), dapat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya

1. Air panas atau kukus jenuh ($160\text{--}250^{\circ}\text{C}$) menyingkirkan sebagian hemiselulosa dan struktur lignin menjadi rusak. Cara ini lebih banyak dimanfaatkan oleh bahan lignoselulosa seperti jerami dan bagas.
2. Larutan encer asam kuat ($140\text{--}190^{\circ}\text{C}$) memiliki kesamaan efek dengan perendaman dalam air panas atau kukus jenuh. Proses lebih ringan karena ada penambahan asam penghidrolisis hemiselulosa.
3. Larutan atau suspensi basa (natrium hidroksida $[\text{NaOH}]$, natrium karbonat $[\text{Na}_2\text{CO}_3]$, kalsium hidroksida $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$, dan amoniak (NH_4OH) . Amoniak kurang direkomendasikan karena biaya tinggi dan perlu diolah kembali.

4. Pelarut organik larutan akuatik zat-zat organik (etanol, butanol, dan fenol) pada temperatur tinggi (mendekati 200°C) akan melarutkan *lignin*.
5. Aneka jamur pelapuk (*white, brown, dan soft rot fungi*) tetapi memerlukan waktu beberapa bulan.



Gambar 2.3 Skema Proses Delignifikasi (Harimurti, 2010).

Menurut Iranmahboob (2002), selulosa secara alami diikat oleh hemiselulosa dan dilindungi oleh lignin. Adanya senyawa pengikat lignin inilah yang menyebabkan bahan-bahan lignoselulosa sulit untuk didegradasi bahkan tidak bisa ditembus air.

Delignifikasi dilakukan dengan larutan NaOH, karena larutan ini dapat menyerang dan merusak struktur lignin, bagian kristalin dan amorf, memisahkan sebagian lignin dan hemiselulosa serta menyebabkan pengembangan struktur selulosa (Gunam dkk, 2010). Menurut Harimurti (2010), keunggulan menggunakan larutan NaOH antara lain dapat dilakukan pada kondisi ruang (tidak memerlukan peralatan bertekanan dan bertemperatur tinggi), waktu yang dibutuhkan relatif lama

(beberapa jam sampai hari), memisahkan *lignin* dengan tidak merusak struktur lain, dan lebih ekonomis.

Menurut Gunam dkk (2011), konsentrasi larutan NaOH 6% dan lama perendaman 12 jam dengan perbandingan substrat 1:15 terhadap NaOH, menghasilkan serbuk ampas tebu terdelignifikasi terbaik dengan kadar selulosa, hemiselulosa, lignin, dan nilai retensi air berturut-turut adalah 72,49, 9,09, 11,88, dan 15,90%.

2.4.2 Hidrolisis Enzim Selulase

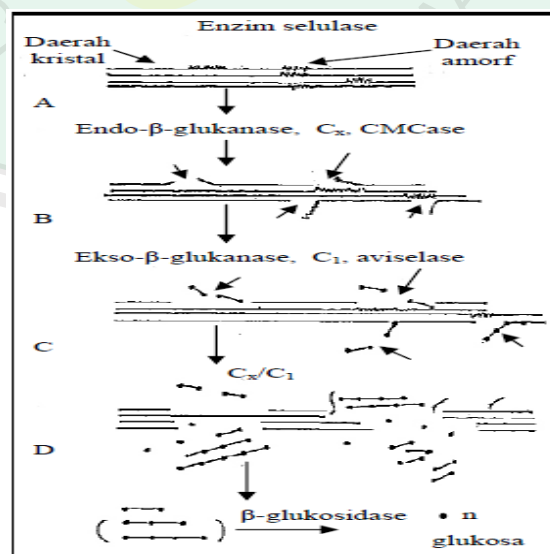
Pembuatan etanol dari bahan baku selulosa dengan metode hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya (Samsuri, 2007). Hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentosa (C₅) dan heksosa (C₆). Hidrolisis dapat dilakukan secara kimia (asam) atau enzimatik. Meskipun demikian, produk akhir etanol yang dimaksudkan merupakan konversi dari glukosa yang didapat baik dari pati maupun selulosa (Latifah, 2008).

Enzim menurut susunan kimianya termasuk golongan protein. Enzim merupakan biokatalisator yaitu agen kimiawi yang secara selektif mempercepat reaksi tanpa ikut bereaksi. Enzim yang menolong dalam pengubahan karbohidrat, lemak, protein, dan beberapa zat lainnya yang terdapat di dalam medium sehingga zat-zat tersebut dapat diserap oleh mikroba, enzim ini disebut ekso-enzim. Sebaliknya,

enzim-enzim yang menolong dalam pembongkaran zat makanan seperti pada peristiwa pernafasan dan fermentasi, termasuk golongan endo-enzim (Dwidjoseputro, 1994). Enzim termasuk metabolit primer. Metabolit primer merupakan produk akhir yang dihasilkan pada fase eksponensial oleh mikroba. Metabolit primer dibutuhkan untuk pertumbuhan setiap mikroba (Gandjar, 1999).

Selulase merupakan enzim yang potensial untuk digunakan dalam proses hidrolisis bahan-bahan berselulosa menjadi gula-gula sederhana. Masalah utama yang dihadapi adalah cara untuk memperoleh enzim selulase yang memiliki aktivitas yang tinggi dan substrat yang sesuai sehingga dapat dihasilkan glukosa dengan konsentrasi dan efisiensi yang tinggi (Rahman, 1992). Menurut Hong (2001), selulase merupakan suatu kompleks multienzim yang bekerja bersama-sama menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Selulase terdiri dari tiga komponen yaitu kompleks endo- β -1,4-glukanase, kompleks ekso- β -1,4-glukanase, dan β -1,4-glukosidase atau selobiase (Meryandini, 2009). Ketiga komponen enzim inilah yang dikenal sebagai selulase dan berperan secara sinergis dalam reaksi pemutusan ikatan β -1,4-glikosidik. Ketiga komponen enzim selulase tersebut memiliki spesifisitas terhadap bagian tertentu dari substrat selulosa. Komponen-komponen tersebut bekerja bersama-sama dan secara bertahap menguraikan selulosa menjadi unit-unit glukosa (Lynd *et al*, 2002). Hasil dari hidrolisis selulosa berupa karbon dan sumber energi bagi mikroorganisme selulolitik tersebut atau mikroorganisme lainnya yang hidup dalam lingkungan yang mengandung selulosa yang telah diuraikan (Peres, 2002).

Proses hidrolisis selulosa oleh mikroba melibatkan enzim ekstraseluler, diantaranya adalah endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase, dan glukosidase. Endoglukanase (Endo- β -1,4-glukanase) bekerja lebih aktif pada selulosa yang dapat larut (amorf) dan derivat terlarut seperti *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) sehingga sering disebut enzim CMC-ase. Endoglukanase menghidrolisis ikatan β -1,4-glukosida secara acak pada rantai selulosa dan menghasilkan ujung rantai baru yang merupakan substrat untuk komponen enzim selulase yang kedua. Komponen enzim selulase kedua adalah eksoglukanase (ekso- β -1,4-glukanase) yang menghidrolisis molekul selulosa acak menjadi molekul selobiosa yang terdiri dari dua subunit glukosa. Enzim eksoglukanase memiliki aktivitas yang sangat tinggi pada substrat Avisel, sehingga sering disebut enzim aviselase. Komponen enzim selulase ketiga adalah β -1,4-glukosidase atau dikenal selobiase menghidrolisis selobiosa dan oligosakarida berantai pendek menjadi monomer-monomer glukosa (Lynd *et al*, 2002).

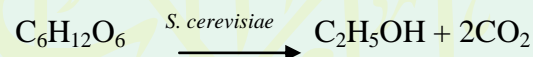


Gambar 2.4 Proses Hidrolisis Selulosa Oleh Enzim Selulase (Nugraha, 2006).

2.4.3 Fermentasi

Fardiaz (1996) mendefinisikan fermentasi etanol adalah proses metabolisme glukosa pada khamir (ragi) tertentu yang terjadi secara anaerob sehingga dapat mengubah glukosa menjadi etanol. Penggunaan ragi *Saccharomyces cerevisiae* banyak digunakan untuk meningkatkan hasil produksi bioetanol dari gula karena tidak membutuhkan sinar matahari dalam pertumbuhan. *Saccharomyces cerevisiae* dalam bentuk ragi dapat langsung digunakan sebagai inokulum pada kultivasi etanol sehingga tidak diperlukan penyiapan inokulum secara khusus (Salsabila dkk, 2013).

Proses fermentasi yang terjadi pada kondisi anaerob oleh *S. cerevisiae* adalah sebagai berikut



Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme yang paling banyak digunakan pada fermentasi alkohol karena dapat berproduksi tinggi, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan aktivitasnya pada suhu 4–32°C (Kartika,1992).

Kusuma (2010), menyatakan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi etanol antara lain:

1. Suhu

Fermentasi etanol sebagai aksi enzimatik akan berlangsung dengan baik antara 24-30°C, sebab pada temperature tersebut enzim yang dihasilkan oleh mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dapat melangsungkan aktifitasnya dengan baik. Diatas temperatur tersebut aktifitas enzim yang dihasilkan akan menurun karena

mengalami denaturasi. Sedangkan dibawah temperatur 24°C reaksi fermentasi etanol akan berlangsung lambat (Kusuma, 2010).

2. pH

Fermentasi alkohol, khamir memerlukan media dengan suasana asam, yaitu 4,8-5,0. Pengaturan pH dapat dilakukan dengan penambahan asam sulfat jika substratnya alkalis atau dengan natrium bikarbonat jika substratnya asam (Hidayat dkk, (2006).

3. Oksigen

Fermentasi alkohol berlangsung anaerobik (tanpa udara). Namun demikian udara diperlukan pada proses pembibitan sebelum fermentasi untuk perkembangbiakan khamir tersebut (Hidayat dkk, 2006). Misalnya *Saccharomyces cerevisiae* yang menghasilkan etanol dari gula akan lebih baik dalam keadaan anaerobik (Kusuma, 2010).

4. Konsentrasi Substrat dan Konsentrasi Enzim

Hasil etanol yang optimal, diperlukan konsentrasi enzim tertentu untuk mengubah semua substrat menjadi produk. Hal ini berarti jumlah etanol optimal yang dihasilkan bergantung pada konsentrasi gula (substrat) yang akan diubah oleh enzim. Apabila konsentrasi gula terlalu tinggi maka proses fermentasi akan berlangsung lambat (Kusuma, 2010).

5. Jenis Mikroba

Setiap jenis fermentasi memerlukan mikroba dengan jenis yang berbeda. Sebagai contoh dalam fermentasi etanol yang digunakan adalah mikroba jenis

Saccharomyces cerevisiae (Kusuma, 2010). Jumlah mikroorganisme sangat mempengaruhi rendemen bioetanol yang dihasilkan. Semakin banyak jumlah mikroorganisme yang ditambahkan pada proses fermentasi semakin banyak pula jumlah rendemen yang dihasilkan, hingga pada saat optimum akan terjadi penurunan rendemen bioetanol (Primadi, 2011). Setiap mikroorganisme termasuk bakteri dan fungi, dalam siklus hidupnya mengalami pertumbuhan. Istilah pertumbuhan, mengacu pada perubahan didalam hasil panen sel (pertambahan total massa sel) dan bukan perubahan individu organisme. Inokulus hampir selalu mengandung ribuan organisme, pertumbuhan menyatakan pertambahan jumlah dan massa melebihi yang ada didalam inokulum asalnya (Pelczar dan Chan, 1988). Setiap mikroorganisme mempunyai kurva pertumbuhan begitu pula fungi dan bakteri. Menurut Gandjar dkk (2006), kurva pertumbuhan mempunyai beberapa fase dapat dilihat pada gambar berikut

1. Fase lag (adaptif)

Fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan, pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat.

2. Fase akselerasi

Fase mulainya sel-sel membelah dan fase lag menjadi fase aktif.

3. Fase eksponensial

Fase perbanyak jumlah sel yang sangat banyak, aktivitas sel sangat meningkat dan fase ini merupakan fase yang penting dalam kehidupan.

4. Fase deselerasi

fase waktu sel-sel mulai kurang aktif membelah.

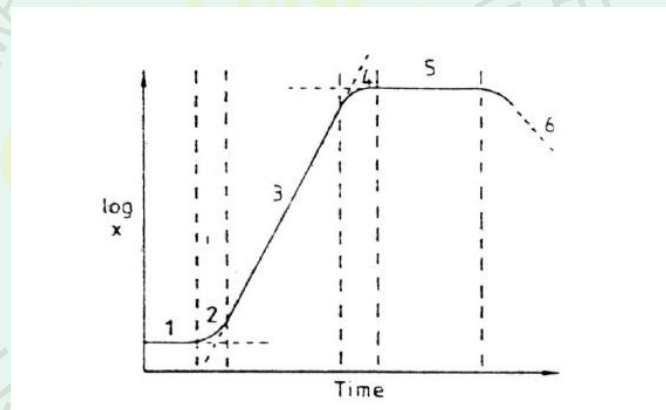
5. Fase stasioner

Fase jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang.

Kurva pada fase ini merupakan garis lurus yang horizontal.

6. Fase kematian dipercepat

Fase dimana jumlah sel-sel yang mati atau tidak aktif lebih banyak dari jumlah sel-sel yang masih hidup.



Gambar 2.5 Kurva pertumbuhan mikroorganisme

Keterangan: 1. fase lag 2. fase akselerasi 3. fase eksponensial 4. fase deselerasi 5. fase stasioner 6. fase kematian (Gandjar, 2006).

6. Konsentrasi Etanol

Seperti mikroba lainnya, *Saccharomyces cerevisiae* tidak tahan terhadap konsentrasi etanol yang lebih besar dari 14% dan pada konsentrasi etanol 16% kegiatan *Saccharomyces cerevisiae* sudah hampir tidak ada sehingga kecepatan fermentasi juga terhenti (Kusuma, 2010).

Menurut Prescott dan Dum (1959), waktu fermentasi merupakan faktor terpenting dalam proses fermentasi etanol yaitu fermentasi biasanya berlangsung secara sempurna dalam 50 jam atau kurang dari itu tergantung temperatur, konsentrasi gula, dan faktor-faktor lain.

2.4.4 Destilasi

Destilasi merupakan pemisahan komponen berdasarkan titik didihnya. Titik didih etanol murni adalah 78°C sedangkan air adalah 100°C (kondisi standar). Pemanasan larutan pada suhu rentang $78 - 100^{\circ}\text{C}$ akan mengakibatkan sebagian besar etanol menguap, dan melalui unit kondensasi akan bisa dihasilkan etanol dengan konsentrasi 95% volume (Harimurti, 2008).

2.5 Produksi Enzim Selulase

Enzim selulase biasanya diproduksi oleh mikroba seperti kapang, bakteri, dan juga protozoa (Morana dkk, 2011). Mikroba menghasilkan enzim selulase ketika berada pada fase eksponensial (Gandjar, 2006). Menurut (Widjaja, 2009) kapang mengalami fase eksponensial ketika spora yang tumbuh memenuhi media. Menurut Safaria dkk (2013), kapang *Trichoderma* sp berada pada fase eksponensial ketika berumur 6 hari, sedangkan kapang *Gliocladium* sp dan *Botrytis* sp berada pada fase eksponensial ketika berumur 7 hari.

Kapang mesofilik aerobik *Trichoderma reesei* dan mutannya merupakan kapang yang sering dipelajari sumber selulasenya. Kapang lainnya yang

memproduksi selulase yaitu *T. viride*, *T. lignorum*, *T. koningii*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Aspergillus* sp, *Chrysosporium pannorum*, dan *Sclerotium rolfsii* (Philippidis, 1991).

Beberapa bakteri juga diidentifikasi dapat memproduksi selulase seperti *Acidothermus cellulolyticus*, *Micromonospora bispora*, *Bacillus* sp, *Cytophaga* sp, *Streptomyces flavogriseu*, *Thermomonospora fusca*, *Thermomonospora curvata*, *Cellulomonas uda*, *Clostridium stercorarium*, *Acetivibrio cellulolyticus*, dan *Ruminococcus albus* (Philippidis, 1991).

Hasil penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa isolat kapang yang menghasilkan selulase tertinggi adalah dari genus *Trichoderma*, *Botrytis* dan *Gliocladium*, dengan zona bening masing-masing sebesar 3,38 cm, 3,09 cm dan 1,32 cm. Namun campuran antara genus *Trichoderma*, *Botrytis* dan *Gliocladium* menghasilkan selulase yang lebih tinggi yaitu sebesar 9,13 cm (Surakhman, 2013).

2.5.1 *Trichoderma* Penghasil Selulase

2.5.1.1 Taksonomi Kapang *Trichoderma*

Klasifikasi jamur *Trichoderma* sp menurut Ismail (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom Fungi

Devisio Amastigomycota

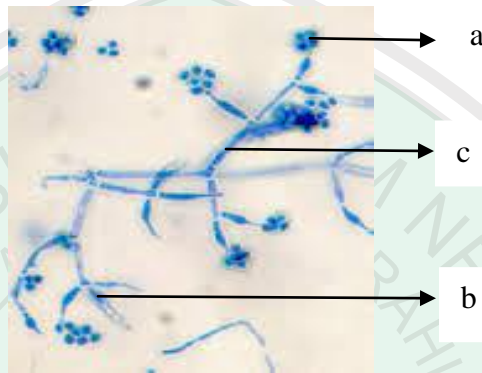
Class Deutromycetes

Ordo Moniliales

Famili Moniliaceae

Genus *Trichoderma*

Spesies *Trichoderma* sp. (Gambar 2.6)



Gambar 2.6 *Trichoderma* sp (Ellis, 2014).
Keterangan: a. Konidia b. Fialid c. Konidiofor

2.5.1.2 Morfologi *Trichoderma*

Koloni *Trichoderma* berwarna putih, kuning, hijau muda, sampai hijau tua. Susunan sel *Trichoderma* bersel banyak berderet membentuk benang halus yang disebut dengan hifa. Hifa pada jamur ini berbentuk pipih, bersekat, dan bercabang-cabang membentuk anyaman yang disebut miselium. Percabangan hifa membentuk sudut siku-siku pada cabang utama. Konidiofor bercabang dan pada ujungnya terbentuk fialid berjumlah 1-3, berbentuk pendek, dengan kedua ujungnya meruncing dibandingkan dengan bagian tengah, berukuran 5-7 μm . Konidia berbentuk semi bulat hingga oval berukuran 2,8-3,2 μm , berlendir, dan berdinding halus (Gandjar, 1999).

2.5.1.3 Fisiologi *Trichoderma*

Trichoderma sp merupakan mikroorganisme yang mempunyai potensi selulolitik karena menghasilkan enzim selulase pada substrat yang mengandung selulosa. Selulase yang dihasilkan kapang *Trichoderma* sp memiliki komponen enzim yang lengkap yaitu C1 (Eksoglukanase) yang aktif menghidrolisis selulosa alam, Cx (Endoglukanase) yang aktif merombak selulosa terlarut seperti CMC (Carboxyl Nethyl Cellulose) dan B-glukosidase. Ketiga komponen ini bekerja sinergik dalam memecah kompleks substrat (Talanca, 2002).

Selain menghasilkan enzim selulase *Trichoderma* sp juga dapat menghasilkan enzim kitinase (pendegradasi kitin). Adanya enzim selulase menyebabkan *Trichoderma* dapat tumbuh secara langsung diatas kayu yang terdiri atas selulosa sebagai polimer dari glukosa, sedangkan kintinase menyebabkan *Trichoderma* dapat bersifat sebagai parasit bagi jamur yang lainnya (Talanca, 2002). *Trichoderma* sp merupakan salah satu jamur yang sifatnya antagonis terhadap patogen tanaman (Ismail, 2010).

2.5.1.4 Ekologi *Trichoderma*

Trichoderma adalah salah satu kapang tanah yang tersebar luas yang hampir dapat ditemui di lahan-lahan pertanian dan perkebunan. *Trichoderma* bersifat saprofit pada tanah, kayu, dan beberapa jenis bersifat parasit pada kapang lain. *Trichoderma* bersifat kosmopolit, dan dapat diisolasi dari tanah, biji-bijian, kertas, tekstil, rhizofer

kentang, gandum, gula bit, rumput, jerami, serta kayu. Memiliki suhu pertumbuhan optimum 15°C – 30°C dan maksimum 30°C– 36°C (Gandjar, 1999).

2.5.2 *Gliocladium* Penghasil Selulase

2.5.2.1 Taksonomi Kapang *Gliocladium*

Klasifikasi jamur *Gliocladium* sp menurut Alexopoulos (1982) adalah:

Kingdom Fungi

Divisio Eumycota

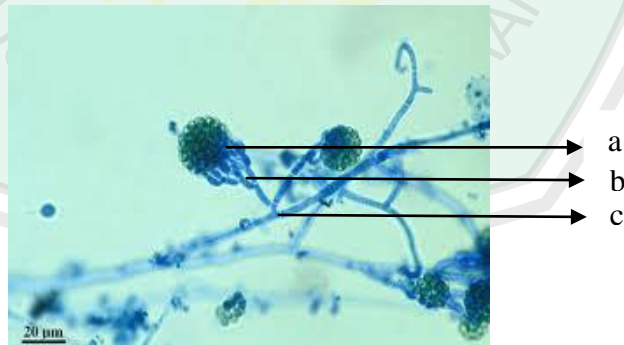
Kelas Hyphomycetes

Ordo Hyphomycetales

Famili Moniliaceae

Genus *Gliocladium*

Spesies *Gliocladium* sp (Gambar 2.7)



Gambar 2.7 *Gliocladium* sp (Ellis, 2014).
Keterangan: a. Konidia b. Fialid c. Konidiofor

2.5.2.2 Morfologi *Gliocladium*

Gliocladium sp mempunyai konidiofor tegak, bersepta bening, dan tidak berwarna, pada cabang terakhir menghasilkan fialid dan kadang-kadang berbentuk botol. Fitur yang paling karakteristik dari genus ini adalah konidiofor tegak, hialin bersel satu, dan konidia berdinging halus di kepala (Schlegel, 1994).

Gliocladium sp digambarkan sebagai tiruan *Penicellium* dengan konidia berlendir. Koloni yang cepat tumbuh, memiliki tekstur berwarna putih pada awalnya, kadang-kadang merah muda, kemudian menjadi pucat sampai hijau tua dengan sporulasi (Howell, 2003).

2.5.2.3 Fisiologi *Gliocladium*

Gliocladium sp merupakan kapang yang bersifat selulolitik yang mampu mendekomposisi pektin, amilum, dan bahan-bahan organik lain, sehingga *Gliocladium* sp dikenal sebagai cendawan pelapuk (Ekowati, 1992). Menurut Nugroho (2010). *Gliocladium* isolat Riau mampu menghasilkan kitinase dan *N*-asetilglukosaminidase. Selain itu *Gliocladium* isolat Riau juga menghasilkan laminarinase. *Gliocladium* sp dapat memarasit dan mematikan berbagai cendawan penyebab penyakit pada tanaman. Tondok (2006), menambahkan bahwa *Gliocladium* sp merupakan mikroorganisme selulolitik yang dapat mempercepat proses dekomposisi.

2.5.2.4 Ekologi *Gliocladium*

Kapang ini dapat ditemui pada tanah hingga kedalaman 80 cm yang memiliki kandungan bahan organik tinggi. Kapang ini hidup sebagai saprofit maupun parasit pada kapang lain, mampu mengkoloni batang atau ranting tanaman yang tertimbun tanah, serasah dedaunan, akar, buah, umbi, dan rizosfir tanaman (Ekowati, 1992).

2.5.3 *Botrytis* Penghasil Selulase

2.5.3.1 Taksonomi Kapang *Botrytis*

Klasifikasi jamur *Botrytis* sp menurut Mubarek (2009) adalah:

Kingdom Fungi

Divisi Ascomycota

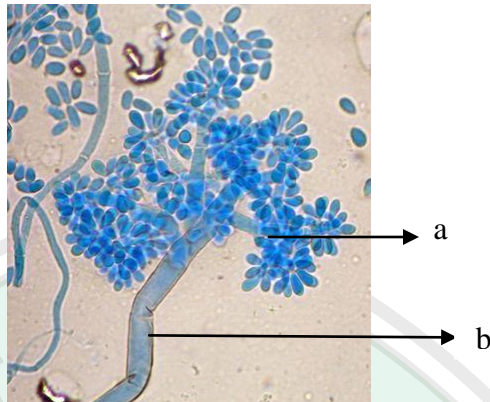
Kelas Leotiomycetes

Ordo Leotiomycetales

Famili Moniliaceae

Genus *Botrytis*

Spesies *Botrytis* sp (Gambar 2.8)



Gambar 2.8 *Botrytis* sp (Ellis, 2014).
Keterangan: a. Konidia b. Konidiofor

2.5.3.2 Morfologi *Botrytis*

Koloni semula berwarna bening hingga putih, kemudian menjadi abu-abu hingga abu-abu kecoklatan. Konidiofor muncul tidak teratur tanpa pembengkakan basal, mempunyai panjang 750 μm hingga lebih dari 2 mm, mempunyai lebar 16-30 μm , pada bagian basis berwarna coklat, berdinding halus, dan pada bagian apikal terdapat percabangan. Konidia berbentuk obovoid, berwarna coklat pucat, berdinding halus, dan berukuran 8-14 μm . Pembentukan konidia umumnya simultan pada pembengkakan dari ujung percabangan konidiofor, dan membentuk sporangiola (Gandjar, 1999).

2.5.3.3 Fisiologi *Botrytis*

Botrytis adalah spesies yang paling parah menginfeksi lebih dari 200 spesies tanaman yang ditandai dengan adanya miselium yang berwarna abu-abu dan berair (Staats *et al*, 2004). *Botrytis* adalah agen penyebab penyakit botrytis atau kapang

abu-abu. Spesies *Botrytis* terutama menyerang buah-buahan, semua jenis beri, dan bunga-bunga (Mubarek, 2009). Meskipun *Botrytis* sangat aktif pada suhu ruang, *Botrytis* juga memiliki kemampuan untuk bertahan hidup pada suhu 0°C yang membuatnya patogen berbahaya terhadap tanaman (Brooks dan Cooley, 1917).

Botrytis menghasilkan cairan ekstraseluler yang komposisinya terdiri dari 30 hingga 44% protein (Doss, 1995). Protein tersebut membentuk beberapa enzim seperti selulase, pektinase, pektin methyl esterase, dan 7 polygalacturonase (Doss, 1999). Enzim yang dihasilkan oleh *Botrytis* dapat mendegradasi dinding sel tanaman.

2.5.3.4 Ekologi *Botrytis*

Botrytis ini merupakan kapang yang tersebar luas, terutama di daerah yang lembab, dan dapat diisolasi dari tanah, lumpur, serta akar tanaman. Spesies ini kadang-kadang merupakan parasit fakultatif pada banyak tumbuhan, antara lain pada daun, bunga, dan buah dari tanaman *Asteraceae* dan *Liliaceae*. Spesies ini menyebabkan kerugian yang tidak sedikit pada tanaman yang potensial seperti anggur, strawberi, kubis, dan selada. Konidianya banyak terdapat di udara dan mudah menyebabkan kontaminasi di laboratorium (Gandjar, 1999).