



Kadar Bioetanol Kulit Mangga (*Mangifera indica*) Dengan Perlakuan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*

Trianik Widyaningrum^{✉ 1)}, Masreza Parahadi²⁾

¹⁾ Pendidikan Biologi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta ²⁾ Pasca Sarjana Bioteknologi UGM

Info Artikel

Diterima: 1 September 2020
Disetujui: 30 September 2020
Dipublikasikan: 15 November 2020

Keywords: *bioethanol*, *Mangifera indica*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*

bioethanol, *Mangifera indica*, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*

Abstract

The petroleum fuel crisis shows that Indonesia's fossil energy reserves are limited. It is necessary to develop renewable, environmentally friendly and sustainable alternative energy, one of which is bioethanol. One of the basic ingredients of making bioethanol is cellulose material such as mango skin (Mangifera indica). This study aims to determine the levels of mango bioethanol with the treatment of cellulase enzymes from Trichoderma reesei and Aspergillus niger. This study is an experimental study with independent variables, namely the comparison of enzymes from Trichoderma reesei and Aspergillus niger (1: 0, 0: 1, 1: 1, 2: 1, 1: 2, 3: 1, 1: 3) and the dependent variable reducing sugars and bioethanol levels. After treatment with enzymes followed by yeast (Saccharomyces cerevisiae) at a dose of 0.05 grams with a fermentation time of 96 hours then measurement of reducing sugar levels using the DNS method, distillation, and measurement of bioethanol levels using Conway diffusion method. Based on the results of the study it was found that bioethanol levels using enzymes from Trichoderma reesei and Aspergillus niger as well as inoculation with yeast (Saccharomyces cerevisiae) were highest at 8% in the comparison of T.reesei: A.niger 3: 1 and 1: 3.

Abstrak

Krisis bahan bakar minyak bumi menunjukkan bahwa cadangan energi fosil yang dimiliki Indonesia terbatas. Perlu dikembangkan energi alternatif yang dapat diperbaharui, ramah lingkungan, dan berkelanjutan, salah satunya adalah bioetanol. Salah satu bahan dasar pembuatan bioetanol adalah bahan berselulosa seperti kulit mangga (*Mangifera indica*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar bioetanol kulit mangga dengan perlakuan enzim selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan variabel bebas yaitu perbandingan enzim dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* (1:0, 0:1, 1:1, 2:1, 1:2, 3:1, 1:3) dan variabel terikat kadar gula reduksi dan kadar bioetanol. Setelah perlakuan dengan enzim dilanjutkan dengan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dengan dosis 0,05 gram dengan waktu fermentasi 96 jam kemudian dilakukan pengukuran kadar gula reduksi dengan metode DNS, destilasi, dan pengukuran kadar bioetanol menggunakan metode Conway diffusion. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa kadar bioetanol dengan menggunakan enzim dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* serta inokulasi dengan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) tertinggi sebesar 8 % pada perbandingan T.reesei:A.niger 3:1 dan 1

PENDAHULUAN

Bahan bakar fosil, terutama minyak bumi, batu bara, dan gas alam, merupakan sumber energi utama bagi sebagian besar industri. Bahan bakar tersebut juga masih merupakan bahan baku yang paling penting untuk menghasilkan energi di dunia. Saat ini, nilai pasar energi dunia sekitar 1,5 triliun dolar didominasi oleh bahan bakar fosil. Namun, sumber-sumber ini tidak lagi dianggap berkelanjutan, dan ketersediaannya jauh lebih sedikit. meramalkan bahwa minyak, batubara, dan gas hanya akan tersisa secara berurutan sekitar 35, 107, dan 37 tahun. Selain itu bahan bakar tersebut menimbulkan dampak lingkungan seperti pemanasan global akibat emisi gas rumah kaca. Oleh karena itu, diperlukan sumber energi terbarukan, berkelanjutan, dan ramah lingkungan seperti bioetanol.

Periset di Balai Besar Teknologi Pati menyebutkan bahwa ada 3 kelompok tanaman sumber bioetanol yaitu tanaman yang mengandung pati seperti gandum, tanaman yang bergula seperti tebu dan tanaman yang berselulosa seperti Mangga (*Mangifera indica*). Mangga merupakan salah satu jenis buah yang berdaging buah dengan komponen utama air dan karbohidrat. Karbohidrat tersebut terdiri dari gula sederhana, tepung, serta selulosa. Adanya selulosa dalam suatu substrat dapat menginduksi terbentuknya enzim selulase oleh mikroorganisme yaitu mikroorganisme selulolitik. Mikroorganisme selulolitik yang dapat digunakan untuk menghasilkan enzim selulase antara lain *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. Pada kenyataannya, selulase bukanlah enzim tunggal tapi merupakan sistem enzim yang terdiri dari beberapa komponen enzim yang bekerja secara bertahap untuk menguraikan selulosa menjadi glukosa. Enzim selulase biasanya diproduksi oleh mikroba seperti jamur dan bakteri, baik bakteri aerob maupun anaerob. Termasuk jamur aerob adalah *Trichoderma reesei*, dan jamur yang sering banyak dipelajari sumber selulasenya adalah *Aspergillus niger*. Selulase dari jamur merupakan glikoprotein yang tidak membutuhkan kofaktor dalam aktivitas enzimnya. Ekstraksi pektin dari kulit mangga mengandung serat sebanyak 1,6 gram per 100 gram bahan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar bioetanol kulit mangga (*Mangifera indica*) dengan perlakuan enzim selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap menggunakan satu faktor yaitu perbandingan enzim *A.niger* dan *T.reesei* (1:0, 0:1, 1:1, 2:1, 1:2, 3:1, 1:3) dengan tiga kali ulangan. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu perbandingan enzim *A.niger* dan *T.reesei* (1:0, 0:1, 1:1, 2:1, 1:2, 3:1, 1:3) dan variabel terikat berupa kadar gula reduksi dan kadar bioetanol.

Preparasi sampel

Kulit mangga varietas manalagi yang diperoleh dari pasar Gamping Yogyakarta, dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan dengan bantuan sinar matahari sampai kering (3 hari), kemudian dihaluskan dengan cara diblender, dan diayak. Bubuk kulit mangga ditimbang sebanyak 120 gram dan dimasukkan ke dalam tabung Erlenmayer 2000 mL, dan ditambah aquadest sebanyak 1.200 mL (diulang

2 kali), kemudian direbus hingga mendidih dan disaring, hingga diperoleh bubur kulit mangga [8]. Bubur kulit mangga diukur kadar gula reduksinya dengan menggunakan metode DNS (sebagai kontrol sebelum perlakuan dengan enzim selulase dari *T.reesei* dan *A. niger*).

Penumbuhan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*

Media PDA (Potato Dextrose Agar) 2,35 gram dilarutkan dalam 100 mL aquadest dan dididihkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi (@ 5 mL), selanjutnya, disterilisasi dalam autoclave selama 20 menit pada suhu 121°C. Kemudian dibuat agar miring dan didiamkan 24 jam. Masing-masing jamur *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* ditumbuhkan pada agar PDA miring tersebut menggunakan kawat ose, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Biakan *Trichoderma reesei* dan *A.niger* yang sudah diinkubasi selama 7 hari (Savaria, dkk 2013)..

Penyiapan Larutan Nutrisi

Proses ini dilakukan untuk menyediakan unsur-unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba. Ditimbang bubuk urea sebanyak 3 g/L, bubuk $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebanyak 10 g/L, bubuk KH_2PO_4 sebanyak 3 g/L, bubuk $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,5 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,5 g/L menggunakan timbangan analitik. Dimasukkan semua bahan tersebut ke dalam gelas beaker 100 mL dan ditambah aquades 80 mL. Semua bahan diaduk dengan menggunakan pengaduk kaca steril (Savaria, dkk 2013).

Tahap produksi enzim

Sebanyak 5 g serbuk kulit mangga dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan 25 mL larutan nutrisi dan ditutup. Campuran (media) tersebut disterilisasi pada temperatur 121°C selama 20 menit kemudian didinginkan. Masing-masing bibit *A.niger* dan *T.reesei* diinokulasikan pada media. *T.reesei* diinkubasi selama 6 hari sedangkan *A.niger* diinkubasi selama 8 hari pada suhu ruang (Anwar, dkk 2010).

Penyiapan Larutan Tween 80%

Larutan tween 80 0,1% berfungsi sebagai surfaktan non ionik yang dapat menurunkan tegangan antara air dan spora. Disiapkan larutan tween 80 1% sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades hingga 100 mL. Kemudian digojog pelan agar homogen Savaria, dkk 2013).

Ekstraksi dan Isolasi enzim

Dituangkan 100 mL larutan 0,1% tween 80 ke dalam sampel kulit mangga yang sudah disiapkan pada tahap 3 dan diaduk pada 150 rpm selama 120 menit pada suhu ruang. Larutan kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai ekstrak enzim kasar .

Hidrolisis bubur Kulit mangga.

Bubur kulit *Mangifera indica* L. pada langkah 1 dimasukkan ke dalam erlenmayer 100 mL kemudian ditambahkan larutan nutrisi sebanyak 25 mL. Setelah ditambahkan larutan nutrisi, kemudian ditambahkan enzim kasar *T.reesei* dan *A.niger* masing-masing sebanyak 10% sesuai perlakuan dengan variasi 1:0, 0:1, 1:1, 2:1, 1:2, 3:1, 1:3 menggunakan pipet ukur secara aseptik dan dibuat tiga kali ulangan (21 erlenmayer), kemudian diaduk menggunakan pengaduk kaca steril. Erlenmayer ditutup dengan kapas steril dan dilapisi almunium foil kemudian diinkubasi selama 24 jam menggunakan inkubator pada suhu 37 oC [12] . Hasil Hidrolisis diukur kadar gula reduksinya.

Pengukuran Gula Reduksi

Analisa kadar glukosa dilakukan dengan metode DNS (Dinitrosalicylic acid). Sampel hasil hidrolisis dengan enzim kasar (Langkah 6) diambil sebanyak 0,2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang steril kemudian ditambahkan 1,8 mL aquades dan 2 mL reagen DNS, kemudian divortex. Selanjutnya larutan yang telah homogen ditutup menggunakan kapas dan almunium foil, kemudian ditempatkan pada pemanas air dengan suhu 100 oC selama 5 menit. Setelah itu didinginkan dan ditambah dengan garam Rochle 40% sebanyak 1/3 dari sampel. Dihitung angka absorbansi sampel dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 575 nm. Data hasil yang diperoleh tiap variabel, dibuat tabel dan grafik sehingga kondisi optimum dari masing-masing variabel dapat diketahui. Angka hasil absorbansi disetarakan dengan grafik linear gula reduksi yang sudah dibuat sebelumnya [13] .

Perlakuan dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Bubur kulit mangga hasil hidrolisis pada langkah ke 6 (21 erlenmayer perlakuan dengan enzim kasar campuran *A.niger* dan *T.reesei*), masing-masing ditambahkan ragi tape (*Saccharomyces cerevisiae*) dengan dosis 0,05 gram, kemudian masing-masing difermentasi selama 96 jam untuk produksi bioetanol. Hasil perlakuan fermentasi diukur kadar gula reduksi dengan metode DNS untuk membandingkan kadar gula sebelum dan setelah perlakuan dengan *S. cerevisiae*. Setelah difermentasi, ada 3 lapisan yang terbentuk yaitu lapisan terbawah merupakan protein, diatasnya air dan etanol. Disedot larutan etanol dengan selang plastik melalui kertas saring berukuran 1 mikron untuk menyaring endapan protein. Walaupun sudah disaring, etanol yang diambil merupakan campuran, untuk memisahkannya dilakukan destilasi atau penyulingan. Dipanaskan campuran etanol tersebut pada suhu 78oC atau setara titik didih etanol. Uap etanol dialirkan melalui pipa yang terendam air sehingga terkondensasi dan kembali menjadi etanol cair (Lestari,dkk 2015).

Pengukuran kadar etanol

Pengukuran kadar etanol menggunakan metode Conway diffusion. Cairan destilat diambil kemudian diencerkan menjadi 50 ml. Ditetaskan 1 ml kalium dikromat asam ke bagian tengah unit micro conway, ditambahkan 1 ml kalium karbonat jenuh ke bagian kiri unit dan 1 ml larutan standar pada bagian kanan unit yang sebelumnya pada bagian tepi unit diolesi vaselin. Unit ditutup dan digoyang

perlahan untuk mencampur larutan alkohol dengan kalium karbonat jenuh. Setelah diinkubasi 2 jam pada suhu 37°C, diambil larutan pada bagian tengah unit dengan pipet kemudian dilarutkan menjadi 10 ml. Larutan tersebut diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 480 nm. Selanjutnya dibuat kurva standar dengan persamaan linearnya (Sari,dkk 2012).

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data kadar gula reduksi dan kadar bioetanol dianalisis dengan Anava dan DMRT pada taraf signifikansi 0,05.

Indeks Kekayaan Spesies (Margalef) (Magurran, 2004)

$$D_{mg} = (S-1) / \ln (N)$$

Keterangan:

S = jumlah spesies

N = total jumlah individu seluruh spesies

Indeks Kemerataan (*Evenness*) (Magurran, 2004)

$$E = \frac{H'}{\ln. S}$$

Keterangan:

E = Indeks kemerataan (nilai antara 0-1)

H' = Indeks keanekaragaman Shanon Wiener

S = Jumlah jeni

Indeks Keanekaragaman Spesies (Shanon-Wiener)

$$H' = -\sum P_i \ln P_i$$

Keterangan:

H' = Indeks Keanekaragaman

P_i = n_i/N

n_i = jumlah spesies ke- i

N = jumlah total seluruh spesies

Indeks Dominansi (Simpson) (Magurran, 2004)

$$C = \sum_{i=1}^s \left(\frac{n_i}{N} \right)^2$$

C = Indeks dominansi Simpson

s = jumlah genera/spesies

n_i = jumlah individu jenis ke-*i*

N = jumlah total individu

Berdasarkan data hasil pengukuran kualitas perairan dan perhitungan indeks keanekaragaman dilakukan analisis secara deskripsi eksplorasi.

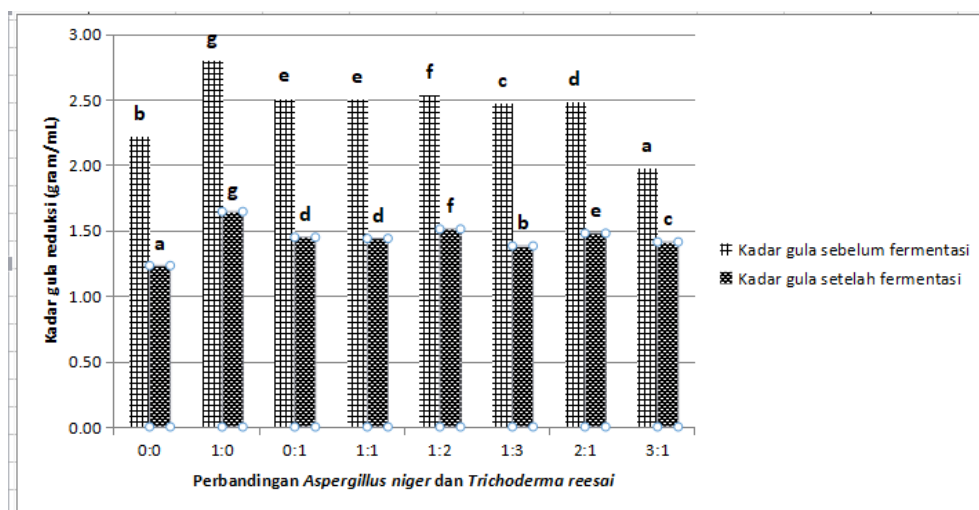
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penumbuhan jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dengan menggunakan media PDA dan kemudian diinkubasi selama 7 hari. Produksi enzim selulase dengan menggunakan jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* terlebih dahulu dengan mengambil spora *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* menggunakan larutan tween 80% yang berperan sebagai surfaktan non ionik yang dapat menurunkan tegangan antara air dan spora karena spora *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* tidak larut dalam air. Larutan tween 80% juga dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel sehingga proses keluarnya enzim dari dinding sel menjadi lebih mudah, selain itu menggunakan tween 80% tidak mempengaruhi pH dari ekstrak enzim karena sifatnya yang non ionik [9]. Kemudian ditambah larutan nutrisi yang bertujuan untuk memberikan nutrisi kepada jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. Setelah tahap produksi enzim kemudian mengukur gula reduksi menggunakan reagen DNS

(Dinitrosalicylic acid). Menurut Kodri (2013) reagen DNS umum digunakan untuk mengukur gula reduksi yang diproduksi oleh mikrobia karena tingkat ketelitiannya yang tinggi sehingga dapat diaplikasikan pada gula dengan kadar sekecil apapun, akan tetapi metode ini mempunyai kekurangan yaitu reagen DNS akan mengalami ketidakstabilan apabila terjadi kontak langsung dengan cahaya sehingga penyimpanan reagen DNS harus terhindar dari kontak langsung dengan cahaya.

Hasil pengukuran gula reduksi seperti pada Gambar 1. dengan nilai kadar gula reduksi tertinggi pada perbandingan enzim kasar *A. niger*: *T. reesei* 0:1 sebesar 2,78 gram/mL (hal ini diduga karena *Aspergillus niger* memiliki kemampuan yang tinggi didalam memecahkan ikatan pada struktur selulosa sehingga mampu menghasilkan glukosa yang lebih tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan [15] bahwa *Aspergillus niger* bekerja secara optimal dalam menghidrolisis substratnya yaitu selulosa yang terdapat pada jerami menjadi glukosa.

Hasil uji laboratorium kadar gula reduksi kulit mangga dengan variasi perbandingan pemberian enzim dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* masing-masing (0:0); (1:0); (0:1); (1:1); (1:2); (1:3); (2:1); (3:1) sebelum dan setelah fermentasi seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Kadar gula reduksi sebelum dan setelah perlakuan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* sebelum dan setelah fermentasi ngka pada gambar yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata (Duncan < 0,05).

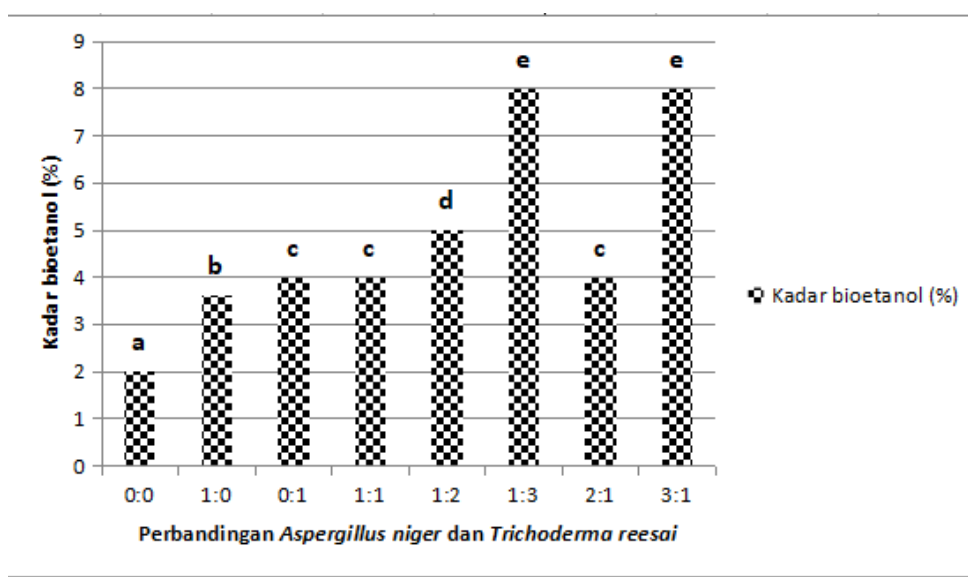
Berdasar Gambar 1 terlihat bahwa kadar gula tertinggi sebelum dan setelah fermentasi pada perlakuan enzim *A. niger*:*T. reesei* (1:0) menunjukkan bahwa *A. niger* bekerja mendegradasi selulase menjadi gula sederhana hingga menunjukkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi dibandingkan sebelum perlakuan dengan *T. reesei* tersebut. Berdasar Gambar 1 tersebut terlihat bahwa ada kerjasama antara *A. niger* dan *T. reesei* dalam mengubah selulosa menjadi gula sederhana yang ditunjukkan oleh perbandingan *A. niger* dan *T. reesei* = 1:2 dan *A. niger* dan *T. reesei* = 2:1 yang menunjukkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi dibandingkan sebelum perlakuan dengan fungi tersebut. Hal tersebut sesuai

pernyataan Anwar (2010) bahwa *A.niger* dan *T.reesai* merupakan fungi sellulotik yang dapat mengubah selulosa menjadi gula sederhana.

Berdasar uji Anava menunjukkan nilai signifikansi ($000 < 0,05$) menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata antara perlakuan perbandingan enzim *A.niger*:*T reesei* (0:0); (1:0); (0:1); (1:1); (1:2); (1:3); (2:1); (3:1) terhadap kadar gula reduksi sebelum dan setelah fermentasi dengan *S. cerevisiae*, yang dilanjutkan dengan uji DMRT (<0.05) terlihat kadar gula tertinggi sebelum fermentasi pada perlakuan *A.niger*:*T reesei* (1:0) dan kadar gula setelah fermentasi pada perbandingan (1:0) juga.

Menurut [16] *Aspergillus niger* merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang berkemampuan baik dalam menghasilkan enzim yaitu enzim selulase dan amiloglukosidase. Menurut [17] selulase merupakan kelas enzim yang diproduksi terutama oleh jamur, bakteri dan protozoa yang mengkatalis proses selulolisis (hidrolisis selulosa). Enzim ini merupakan tipe enzim hidrolisis. Selulase juga dihasilkan oleh beberapa organisme tipe lain seperti termit (mikroba parasit) yang hidup bersimbiosis di dalam perut organisme lainnya.

Berikut juga disajikan hasil pengukuran kadar bioetanol hasil fermentasi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* pada Gambar 2.



Gambar 2. Kadar bioetanol kulit mangga setelah fermentasi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* angka pada gambar yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata (Duncan $< 0,05$).

Berdasar Gambar 2 tersebut terlihat bahwa kadar bioetanol tertinggi terdapat pada perlakuan *A.niger* : *T reesei* = 1:3 dan 3:1. Hal ini menunjukkan bahwa *A.niger* : *T reesei* dapat mengubah selulosa pada kulit mangga menjadi gula sederhana sehingga dapat diubah menjadi bioetanol oleh *Saccharomyces*.

Berdasar Gambar 2 terlihat kadar bioetanol hasil fermentasi diperoleh bioetanol dengan kadar yang bervariasi. Adanya bioetanol hasil fermentasi tersebut berdasarkan pendapat penelitian terdahulu hasil metabolisme *S. cerevisiae* pada sumber makanan yang berkarbohidrat seperti gula, pati, dan selulosa adalah bioetanol. Dengan adanya bioetanol tersebut menandakan bahwa proses fermentasi oleh *S. cerevisiae* berlangsung dengan baik. Hal tersebut sesuai pendapat Wirahadikusumah (2002) bahwa penguraian karbohidrat atau selulosa menjadi piruvat dengan bantuan enzim piruvat dekarboksilase yang direduksi menjadi bioetanol adalah melalui peristiwa glikolisis.

Menurut Saputra,dkk (2012) bioetanol yang berasal dari sumber hayati yang diproduksi dari lignoselulosa (jagung, singkong, sorgum, kentang, gandum, tebu, dan bit) atau limbah biomassa (tongkol jagung, limbah jerami, limbah buah-buahan, dan limbah sayuran lainnya) atau rumput laut. Bioetanol dapat dijadikan sebagai bahan bakar alternatif karena sifatnya yang ramah lingkungan, mengandung emisi gas CO₂ lebih rendah dan dapat diproduksi terus menerus oleh mikroorganisme.

Menurut Suprihatin (2010) fermentasi adalah suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktifitas energi yang dihasilkan oleh mikrobia. Fermentasi alkohol maksudnya untuk menyatakan semua kegiatan mikrobia secara aerob maupun anaerob yang menghasilkan suatu proses perubahan kimia spesifik pada substrat organik. Pada proses fermentasi ini, gula yang terdapat di dalam perasan akan dirombak oleh sel khamir menjadi alkohol dan gas CO₂. Produksi bioetanol menggunakan fermentasi kulit mangga dengan bantuan mikrobia *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentasi dilakukan selama 72 jam karena semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi kadar bioetanol yang diperoleh. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hidayat (2006) pada waktu 72 jam fermentasi berjalan dengan maksimum sehingga kadar bioetanol yang dihasilkan semakin tinggi. Maka semakin lama fermentasi hasil kadar bioetanol yang diperoleh semakin meningkat. Waktu inkubasi 72 jam ini diduga pertumbuhan dan aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* pada pertumbuhan logaritmik, dimana nutrient dikonsumsi secara baik dan dihasilkan zat-zat metabolik secara maksimal.

Kadar bioetanol yang dihasilkan selama proses fermentasi seperti pada Gambar 2. dengan nilai tertinggi perbandingan enzim *A.niger*: *T. reesei* 3:1 dan 1:3, yaitu dengan rerata 8 % hal ini karena semakin banyak enzim selulase dari konsentrasi enzim yang ditambahkan maka kadar bioetanol yang dihasilkan semakin tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan [24] semakin banyak enzim selulase yang ditambahkan maka kadar bioetanol yang dihasilkan semakin tinggi. Hidrolisis dinding selulosa oleh enzim selulase telah meningkatkan jumlah glukosa sehingga *Saccharomyces cerevisiae* akan menfermentasi glukosa dengan jumlah yang lebih besar dan menghasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi sebagai hasil fermentasinya. sedangkan terkecil pada kontrol (tanpa perlakuan *T reesei* dan *A. niger*) dengan nilai rerata yaitu 2 % hal ini karena tidak terjadi perombakan sellulosa menjadi glukosa secara maksimal. Tanpa perlakuan enzim yang terdapat pada *Trichoderma reesei* maka tidak terjadi perombakan sellulosa menjadi glukosa, sehingga *Saccharomyces* hanya merombak gula yang ada dalam substrat dalam jumlah yang sedikit menjadi bioetanol. Menurut Zeli,dkk (2014) *Trichoderma reesei* jamur berfilamen yang dapat menghasilkan endoglukanase dan eksoglukanase sampai 80% tetapi β -glukosidasenya lebih rendah sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa.

Sedangkan yang dibutuhkan dalam produksi bioetanol yaitu glukosa dengan fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* mengubah glukosa menjadi bioetanol.

Berdasar uji Anava menunjukkan nilai signifikansi ($000 < 0,05$) menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata antara perlakuan perbandingan enzim *A.niger*:*T reesei* (0:0); (1:0); (0:1); (1:1); (1:2); (1:3); (2:1); (3:1) terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Berdasar uji lanjut dengan uji DMRT (<0.05) terlihat bahwa kadar bioetanol tertinggi pada perlakuan enzim *A.niger*: *T.reesei* 1:3 dan 3:1.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat dirumuskan kesimpulan bahwa enzim selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dapat meningkatkan kadar bioetanol hasil fermentasi kulit mangga. Enzim selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* yang paling dapat meningkatkan kadar bioetanol kulit mangga adalah pada perbandingan 3:1 dan 1:3, dengan kadar bioetanol 8%.

DAFTAR PUSTAKA

- Goldemberg, J. 2006. The promise of clean energy. *Energy Policy*. 34 (1): 2185–2190.
- Shafiee, S. & Topal, E. 2009. When will fossil fuel reserves be diminished. *Energy Policy*. 37 (1): 181–189.
- Naik, S.N., Goud, V.V., Rout, P.K. & Dalai, A.K. 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14 (1): 578–597
- Bringezu, S., Ramesohl, S., Arnold, K., Fishedick, M., von Geibler, J., Liedtkeand, C. & Schütz, H. 2007.. Towards a sustainable biomass strategy. What we know and what we should know. *Wuppertal Institute for Climate, Environment and Energy*. 163 (1): 128-130
- Ajila CM, Bhat SG, Rao UJSP. 2007. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. *Food Chem* 102:1006–11
- Anggarawati, D. 2012. Aktivitas Enzim Selulase Isolat SGS 2609 BBP4B-KP Menggunakan substrat Limbah Pengolahan Rumput Laut yang dipretreatment dengan Asam.Fakultas Teknik. Universitas Indonesia
- Prasetyowati, Karina Permata Sari, Healty Pesantri, 2009. Ekstraksi Pektin Dari Kulit Mangga. *Jurnal Teknik Kimia*, No. 4, Vol. 16, Desember 2009.
- Sukardati, S., Kholisoh, D.S., Prasetyo, H.,Santoso P.W., dan Mursini.T. 2010. Produksi Gula Reduksi dari Sabut Kelapa Menggunakan Jamur *Trichoderma reesei*. Tesis Teknik Kimia, UPN Yogyakarta.
- Safaria, Selviza., Nora Idiawati dan Titin Anita Zaharah. 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. JKK Vol 2
- Anwar, N.; A. Widjaja; dan S. Winardi, 2010, Peningkatan Unjuk Kerja Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Menggunakan Campuran Selulase Kasar dari *Trichoderma ressei* dan *Aspergillus niger*, Institut Teknologi Sepuluh November, *Makara, Sains*, 14(2): 113-116.
- Szendefy, J.; Szakacs, G. And Christopher, L., 2006, “potential of solid-state Fermentation Enzymes of *Aspergillus* in Biobleaching of Paper Pulp”, *Enzymes and Microbial Technology*, 39, 1354-1360.
- Lestari, Elgina May., Elvie Yenie dan Sri Rezeki Muria . 2015. “Pembuatan Bioetanol dari Lmbah Tongkol Jagung Menggunakan Proses Simultancous *Sacharification And Fermentation (Ssf)* Dengan variasi Konsentrasi Enzim Dan Waktu Fermentasi”, *Jurnal JOM FTEKNIK*. 2 (2).
- Kodri., Bambang Dwi Argo dan Rini Yulianingsih. 2013. “Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan *Pretreatment Microwave*”. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 1 (1).
- Sari, Ni Ketut., K. Y. Dharmawan., A. Gitawati. 2012. Pemanfaatan Limbah Biji Jagung Dari Industri Pembibitan Benih Jagung Menjadi Bioetanol. *Seminar Nasional Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono IX*

- Pujiarti, R. Bakti Kiswardianta, Wiwin Solikati. 2014. Pengaruh konsentrasi dan Lama Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari Kapang *Aspergillus niger*. *Jurnal LPPM*. Vol. 2 No. 1.
- Kasmiran Ariani dan Tarmizi. 2012. "Aktivitas Enzim Selulase dari Kapang Selulolitik pada Substrat Ampas Kelapa. *Jurnal Lentera*". 12 (1).
- Bakti, Candra Paska. 2012. "Optimasi Produksi Enzim Selulase dari *Bacillus* sp BPPT CC RK2 dengan Variasi pH dan Suhu Menggunakan Response surface Methodology". Fakultas Teknik Universitas Indonesia
- Narita, Vanny, 2005. *Saccharomyces cerevisiae Superjamur yang Memiliki Sejarah Luar Biasa*. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT). Jakarta. [http://www.bppt.com/Saccharomyces cerevisiae](http://www.bppt.com/Saccharomyces_cerevisiae). download tanggal 10 Maret 2008
- Campbell, N.A., Reece, J.B., dan Nitchel, L.G. 2003. *Biologi: Edisi Kelima Jilid 2*. Jakarta: Erlangga
- Desrosier, Norman W, 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Hidayat. N. 2006. Mikrobiologi Industri. Edisi Pertama. Yogyakarta
- Wirahadikusumah, Muhammad, 2002. *Biokimia Metabolisme Energi, Karbohidrat, dan Lipid*. Bandung : Penerbit ITB Bandung
- Saputra D.R., Ali Ridlo dan Ita Widowati. 2012. "Kajian Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J. G. Agardh Sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi". *Journal Of Marine Research*. 1 (2): Hal 141-151.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: UNESA Pres
- Khaira Zul Fadly, Elvi Yenie dan Sri Rezeki Muria. 2015. "Pembuatan Bioetanol dari Limbah Tongkol Jagung Menggunakan Proses *Simultaneous Sacharification an Fermentasi* (SSF) dengan Variasi Konsentrasi Enzim dan Waktu Fermentasi". *Jurnal JOM Fteknik*. 2. (2).
- Zely Feki Desfran. 2014. "Pengaruh Waktu dan Kadar *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Produksi Etanol dari Serabut Kelapa pada Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan dengan Enzim Selulase". Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Bengkulu