



**PENGARUH RASIO CRUDE ENZIM SELULASE *Trichoderma reesei*
DAN *Aspergillus niger* TERHADAP KADAR GULA DAN BIOETANOL
FERMENTASI KULIT KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)
MENGUNAKAN *Zymomonas mobilis***

Trianik Widyaningrum^{1*} & A'isyah Arroobi'atu Rizqiyah²

^{1&2}Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Ahmad Dahlan, Jalan Ringroad Selatan, Bantul,
Daerah Istimewa Yogyakarta 55191, Indonesia

*Email: trianik.widyaningrum@pbio.uad.ac.id

Submit: 30-10-2023; Revised: 08-12-2023; Accepted: 18-12-2023; Published: 30-12-2023

ABSTRAK: Kebutuhan bahan bakar minyak di Indonesia semakin meningkat seiring dengan peningkatan jumlah konsumsi masyarakat di bidang transportasi, industri, dan ekonomi. Sedangkan sumber bahan bakar minyak bumi di Indonesia semakin menipis. Oleh karena itu diperlukan pemanfaatan energi alternatif yaitu bioetanol. Bioetanol dapat dihasilkan dari limbah organik yang mengandung selulosa tinggi, salah satunya yaitu kulit kacang tanah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbandingan rasio *crude* enzim selulase *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* terhadap kadar gula dan etanol hasil fermentasi kulit kacang tanah menggunakan *Zymomonas mobilis*, dan mengetahui rasio *crude* enzim selulase yang menghasilkan kadar gula dan etanol tertinggi hasil fermentasi kulit kacang tanah menggunakan *Z. mobilis*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan variabel bebas yaitu rasio *crude* enzim selulase *T. reesei* : *A. niger* (0:0), (1:0), (0:1), (1:1), (1:2), (2:1), (1:3), dan (3:1) dan variabel terikat kadar gula dan bioetanol. Analisis data hasil penelitian eksperimen menggunakan ANOVA dan Uji DMRT. Penambahan *crude* enzim selulase dari *T. reesei* dan *A. niger* berpengaruh terhadap kadar gula dan bioetanol hasil fermentasi kulit kacang tanah. Rasio *crude* enzim selulase dari *T. reesei* dan *A. niger* yang menghasilkan kadar gula tertinggi adalah pada perlakuan P5 rasio *crude* enzim *T. reesei* : *A. niger* (2:1) yaitu 0,14 g/mL dan kadar etanol hasil fermentasi kulit kacang tanah tertinggi adalah pada perlakuan P8 rasio *crude* enzim *T. reesei* : *A. niger* (1:3) yaitu 2,23%.

Kata Kunci: Bioetanol, Kulit Kacang Tanah, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Zymomonas mobilis*.

ABSTRACT: The need for fuel oil in Indonesia is increasing along with the increase in the number of people's consumption in the fields of transportation, industry, and economy. While the source of petroleum fuel in Indonesia is running low. Therefore, it is necessary to utilize alternative energy, namely bioethanol. Bioethanol can be produced from organic waste that contains high cellulose, one of which is peanut shells. This study aims to determine the effect of the ratio of crude cellulase enzyme *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger* on sugar and ethanol content of peanut shell fermentation using *Zymomonas mobilis*, and to determine the ratio of crude cellulase enzyme that produces the highest sugar and ethanol content of peanut shell fermentation using *Z. mobilis*. This research is an experimental study with independent variables, namely the ratio of crude cellulase enzyme *T. reesei* : *A. niger* (0:0), (1:0), (0:1), (1:1), (1:2), (2:1), (1:3), and (3:1) and the dependent variable of sugar and bioethanol content. Data analysis of experimental research results using ANOVA and DMRT test. The addition of crude cellulase enzyme from *T. reesei* and *A. niger* affects the sugar content and bioethanol from peanut shell fermentation. The ratio of crude cellulase enzyme from *T. reesei* and *A. niger* that produces the highest sugar content is in the treatment P5 ratio of crude enzyme *T. reesei* : *A. niger* (2:1) which is 0.14 g/mL and the highest ethanol content from groundnut shell fermentation is in the treatment of P8 crude enzyme ratio of *T. reesei* : *A. niger* (1:3) which is 2.23%.

Keywords: Bioethanol, Peanut Shell, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Zymomonas mobilis*.



How to Cite: Widyaningrum, T., & Rizqiyah, A. A. (2023). Pengaruh Rasio *Crude* Enzim Selulase *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* terhadap Kadar Gula dan Bioetanol Fermentasi Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Menggunakan *Zymomonas mobilis*. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(2), 1615-1629. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i2.9487>



Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Indonesia mengalami peningkatan konsumsi bahan bakar minyak yang menyebabkan produksi minyak nasional menurun. Keadaan tersebut diakibatkan oleh pertambahan jumlah kendaraan yang sebagian besar berbahan bakar bensin dan solar dari energi fosil (Eka *et al.*, 2014). Cadangan energi fosil di Indonesia terus mengalami penurunan dalam beberapa tahun terakhir, sedangkan kebutuhannya terus meningkat, sehingga menyebabkan subsidi yang terus melambung. Oleh karena itu, diperlukan penanganan terkait konsumsi bahan bakar minyak di Indonesia. Cara yang dapat dilakukan adalah dengan mengoptimalkan sumber daya alam yang ada untuk menemukan energi alternatif bersumber pada bahan terbarukan atau bahan bakar nabati, sehingga dapat menggantikan bahan bakar fosil yang saat ini terus menerus semakin berkurang jumlahnya. Salah satu jenis bahan bakar alternatif yang dapat digunakan adalah bioetanol yang ramah lingkungan. Bioetanol merupakan jenis biofuel atau bahan bakar cair dari pengolahan tumbuhan di samping biodiesel. Bioetanol bersumber dari gula sederhana, pati, dan selulosa yang difermentasi dan dilanjutkan dengan proses destilasi. Kandungan selulosa tinggi dapat ditemukan pada kulit kacang tanah.

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) merupakan salah satu komoditas yang sangat digemari masyarakat Indonesia. Menurut Pusat Data dan Informasi Pertanian (2020), konsumsi kacang tanah masyarakat pada tahun 2020 sebesar 0,288 kg/kapital/tahun. Berdasarkan Badan Pusat Statistik (BPS) berat kulit kacang tanah 30% dari berat keseluruhan kacang tanah. Kulit kacang tanah tersebut belum dimanfaatkan secara efektif dan hanya menjadi sampah organik. Limbah kulit kacang tanah mengandung 63,5% selulosa, 13,2% lignin, 9,5% air, 8,4% protein, 3,6% abu, dan 1,8% lemak (Andana *et al.*, 2023; Oktasari, 2018). Senyawa selulosa yang dihidrolisis akan mampu menghasilkan glukosa (Lestari *et al.*, 2018). Sumber selulosa yang tinggi dalam kulit kacang tanah menjadikan limbah ini memiliki potensi sebagai bahan baku yang dapat dikonversi menjadi bioetanol. Tahapan produksi bioetanol melalui proses *pretreatment*, hidrolisis menggunakan *crude* enzim selulase, fermentasi, dan destilasi. Tujuan *pretreatment* yaitu untuk memecah molekul lignin yang ada pada struktur luar dari kulit kacang tanah. Pada kondisi sebelum *pretreatment*, kandungan lignin yang membentuk ikatan kovalen dengan selulosa dan hemiselulosa sukar untuk dipecah (Devi *et al.*, 2019).

Produksi bioetanol dapat dilakukan dengan cara fermentasi enzimatik (Rosita, 2017). Fermentasi enzimatik merupakan suatu proses perubahan kimiawi pada suatu substrat organik dari senyawa kompleks menjadi lebih sederhana



melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganismenya (Muin *et al.*, 2015). Enzim yang dapat menghidrolisis selulosa adalah enzim selulase. Enzim selulase merupakan enzim yang mampu menguraikan selulosa dengan produk utamanya adalah glukosa, selobiosa, dan oligosakarida. Selulase memiliki sistem enzim yang terdiri dari endo- β -1,4 glukanase, ekso- β -1,4 glukanase, dan β -D-glukosidase. Ketiga enzim ini bekerja secara sinergis untuk memecah selulosa dan melepaskan gula pereduksi sebagai produk akhir. Endo- β -1,4 glukanase memutus ikatan rantai dalam selulosa untuk menghasilkan molekul selulosa yang lebih pendek, ekso- β -1,4 glukanase memutus ujung rantai selulosa untuk menghasilkan molekul selobiosa, molekul selobiosa ini diputus menjadi dua molekul glukosa oleh β -D-glukosidase (Kodri *et al.*, 2013). Enzim selulase dapat diproduksi dari kapang ataupun bakteri. Proses hidrolisis selulosa pada penelitian ini menggunakan *crude* enzim selulase yang berasal dari fungi yaitu *T. reesei* dan *A. niger*.

Trichoderma reesei merupakan jamur penghasil enzim selulase yang memiliki kemampuan untuk mensekresikan selulase sekitar 80%. Kapang *T. reesei* dapat menghasilkan kadar β -glukosidasenya lebih rendah dibandingkan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase yang mencapai 80%. Sedangkan kapang *A. niger* dapat menghasilkan glukosidase lebih tinggi dibandingkan dengan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase. Enzim selulase dalam menghidrolisis selulosa bekerja dengan cara memecah ikatan β -1,4-D-glikosida, *cellobiohydrolase*, dan β -glucosidasenya untuk menghasilkan glukosa. Perlakuan memberikan *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* diharapkan dapat memperoleh rasio optimum untuk proses hidrolisis enzimatik, sehingga dihasilkan glukosa yang dapat digunakan selama proses fermentasi (Kodri *et al.*, 2013).

Glukosa hasil dari pemecahan selulosa tersebut dapat diubah menjadi bioetanol. Selanjutnya, kulit kacang tanah yang telah dihidrolisis menggunakan *crude* enzim selulase difermentasikan menggunakan bantuan mikroorganismenya *Zymomonas mobilis*. Bakteri *Z. mobilis* merupakan salah satu inokulum yang digunakan dalam proses fermentasi dikarenakan mampu mengubah glukosa, fruktosa, dan sukrosa menjadi etanol (Kusumaningati *et al.*, 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan bioetanol kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan perlakuan rasio *crude* enzim selulase dari *T. reesei* dan *A. niger*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil kadar gula dan kadar bioetanol dari limbah kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan perlakuan rasio *crude* enzim selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*.

METODE

Penelitian eksperimen menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap), dengan variabel bebas yaitu rasio *crude* enzim selulase *T. reesei* : *A. niger* dan variabel terikat kadar gula dan bioetanol. Terdapat 8 perlakuan rasio *crude* enzim selulase *T. reesei* : *A. niger* yaitu P1 (0:0), P2 (1:0), P3 (0:1), P4 (1:1), P5 (1:2), P6 (2:1), P7 (1:3), dan P8 (3:1) dengan masing-masing 3 kali ulangan. Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS dengan uji ANOVA dan uji lanjut menggunakan DMRT dengan taraf signifikansi 0,05. Penelitian dilaksanakan di



Laboratorium Riset Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Ahmad Dahlan.

Sterilisasi Alat

Peralatan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan oven sebelum digunakan dalam penelitian eksperimen. Sterilisasi alat bertujuan untuk mematikan dan mencegah kontaminasi mikroorganisme guna menciptakan suasana aseptis pada saat eksperimen. Sterilisasi alat menggunakan oven dengan suhu 160°C selama 45 menit (Wulandari *et al.*, 2021).

Penumbuhan *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*

T. reesei dan *A. niger* ditumbuhkan pada media miring dengan cara melarutkan dan 10 gram PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang ditambahkan 150 mL aquades yang kemudian dipanaskan. PDA disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm. PDA yang sudah disterilisasi dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL, lalu dinginkan dengan memposisikan tabung miring. Kemudian mengkulturkan jamur menggunakan ose bulat dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Widyaningrum *et al.*, 2017).

Penumbuhan *Zymomonas mobilis*

Penumbuhan bakteri *Z. mobilis* diawali dengan pembuatan larutan NA (*Nutrient Agar*), yaitu 6 g NA dilarutkan dengan 300 mL aquades lalu dipanaskan menggunakan penangas, kemudian larutan NA disterilisasi dengan autoklaf. Sediakan media NA miring lalu bakteri *Z. mobilis* disubkulturkan pada media, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Kultur bakteri *Z. mobilis* pada media miring tersebut dibiakkan kembali dalam 300 mL media NB (*Nutrient Broth*) yang telah diinkubasi dan disimpan kembali dalam inkubator selama 48 jam (Widyaningrum & Parahadi, 2020).

Pretreatment Sampel

Prosedur *pretreatment* yaitu dengan menyiapkan serbuk kulit kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). Kulit kacang tanah yang sudah dicuci lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C selama 2 jam, kemudian kulit kacang yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan disaring hingga diperoleh serbuk kacang tanah. Serbuk sebanyak 300 g yang diperoleh selanjutnya direndam dengan 1000 mL larutan NaOH 0,5 N, diaduk dan direndam selama 60 menit. Serbuk yang sudah direndam kemudian disaring dan dicuci dengan aquades berulang kali hingga pH netral (Santi & Widyaningrum, 2022). Pengukuran jumlah kadar gula reduksi dalam sampel sebelum dan sesudah *pretreatment* menggunakan metode DNS untuk membandingkan kadar gula reduksi yang dihasilkan (Widyaningrum & Parahadi, 2020).

Pembuatan Larutan Nutrisi

Pembuatan larutan nutrisi untuk 100 mL membutuhkan CaCl₂ H₂SO₄ sejumlah 0,5 g/L, urea sejumlah 3 g/L, KH₂PO₄ sejumlah 3 g/L, MgSO₄·7H₂O sejumlah 0,5 g/L, dan dilarutkan dengan 100 mL aquades di dalam gelas beker. Semua komponen dihomogenkan menggunakan pengaduk kaca steril dan penyimpanan larutan nutrisi di dalam lemari pendingin (Safaria *et al.*, 2013).



Penyiapan Larutan Tween 80%

1 mL larutan Tween 80% ditambahkan 100 mL aquades steril di dalam labu ukur 100 mL, kemudian digojok hingga homogen. Larutan Tween 80% berperan sebagai surfaktan non ionik yang dapat menurunkan tegangan antara air dan spora, karena spora *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* tidak larut dalam air (Safaria *et al.*, 2013).

Produksi Crude Enzim dari Jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*

Biakan *T. reesei* dan *A. niger* dimasukkan masing-masing ke dalam erlenmeyer 500 mL yang berisi 75 mL larutan nutrisi dan 15 g serbuk kulit kacang tanah untuk masing-masing jamur. Kemudian *T. Reesei* diinkubasi selama 6 hari dan *A. niger* selama 8 hari (Widyaningrum & Parahadi, 2020). Biakan *T. reesei* dan *A. niger* yang sudah diinkubasi selanjutnya disuspensikan dengan 100 mL larutan Tween 80%.

Larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam untuk masing-masing jamur. Pemanenan *crude* enzim menggunakan cara sentrifugasi yaitu endapan larutan dan cairan dipisahkan dengan cara disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dari masing-masing larutan tersebut berupa ekstrak *crude* enzim yang akan diperlukan dalam proses hidrolisis (Widyaningrum & Parahadi, 2020).

Hidrolisis Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.)

Substrat kulit kacang tanah sesudah *pretreatment* ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:10 atau sebanyak 300 g substrat dan aquades 3000 mL, kemudian substrat kulit kacang direbus hingga mendidih dan diambil ekstraknya dengan cara disaring menggunakan kain. Ekstrak kulit kacang tanah tersebut dituangkan ke 24 botol yang berukuran 100 mL lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm dengan waktu 15 menit. Botol berukuran 100 mL yang berisi larutan kulit kacang tanah tersebut ditambahkan *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* sebanyak 10% dari 100% total larutan, yaitu volume total *crude* enzim 10 mL dan dimasukkan pada masing-masing perlakuan dari rasio *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* (0:0), (1:0), (0:1), (1:1), (2:1), (1:2), (3:1), dan (1:3) menggunakan pipet ukur dan diaduk menggunakan pengaduk kaca steril secara aseptik.

Pada P1 (0:0) sebagai kontrol yaitu *crude* enzim *T. reesei* 0 mL dan *A. niger* 0 mL, P2 (1:0) maka *crude* enzim *T. reesei* 10 mL dan *A. niger* 0 mL, P3 (0:1) maka *crude* enzim *T. reesei* 0 mL dan *A. niger* 10 mL, P4 (1:1) maka *crude* enzim *T. reesei* 5 mL dan *A. niger* 5 mL, P5 (2:1) maka *crude* enzim *T. reesei* 7,5 mL dan *A. niger* 2,5 mL, P6 (1:2) maka *crude* enzim *T. reesei* 2,5 mL dan *A. niger* 7,5 mL, P7 (3:1) maka *crude* enzim *T. reesei* 6,67 mL dan *A. niger* 3,33 mL, P8 (1:3) maka *crude* enzim *T. reesei* 3,33 mL dan *A. niger* 6,67 mL. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali pada setiap perlakuan, sehingga didapatkan 21 botol berukuran 100 mL dengan 3 botol berukuran 100 mL sebagai kontrol. Masing-masing mulut botol ditutup rapat dengan kapas yang dilapisi *aluminium foil*. Selanjutnya, diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam, hasil proses hidrolisis diukur kadar gula reduksinya (Santi & Widyaningrum, 2022).



Pembuatan Larutan DNS

Pembuatan larutan DNS dengan melarutkan 2 g asam dinitrosalisilat, 0,1 g sodium sulfat, 4 g NaOH ke dalam 200 mL aquades steril dan diaduk hingga homogen menggunakan pengaduk kaca, kemudian botol ditutup dan disimpan di tempat yang sejuk dan gelap bertujuan untuk mencegah *reagent* terdegradasi dan teroksidasi.

Pembuatan Garam Rochelle

Pembuatan Garam Rochelle yaitu menimbang 40 g potasium sodium ttrat dan dimasukkan ke dalam botol 100 mL aquades steril kemudian diaduk hingga homogen, kemudian ditutup dengan *aluminium foil*, dan disimpan di kulkas (Widyaningrum & Parahadi, 2020).

Pengukuran Gula Reduksi

Kadar gula reduksi diukur memakai metode DNS. Sampel yang diperoleh dari hasil hidrolisis enzimatis setiap botol dalam keadaan jernih dipipet hingga 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril. Kemudian ditambahkan 0,5 mL aquades dan 1 mL larutan DNS. Tabung reaksi dipanaskan dalam *waterbath* selama 5 menit pada suhu air 90°C hingga terjadi reaksi antara DNS dengan glukosa dalam sampel. Selanjutnya, tabung reaksi dibiarkan pada suhu kamar, kemudian ditambahkan dengan 1 mL larutan Garam Rochelle dan divortex agar tercampur secara homogen. Seluruh larutan dalam tabung reaksi diukur kadar gula dengan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 540 nm (Ferdiansyah *et al.*, 2015).

Fermentasi Menggunakan *Zymomonas mobilis*

Fermentasi dilakukan dengan menambahkan 10 mL biakan *Zymomonas mobilis* dalam NB pada masing-masing botol hasil hidrolisis yang berukuran 100 mL sebelumnya (Widyastanti & Widyaningrum, 2022). Proses fermentasi dilakukan dengan waktu 72 jam atau 3 hari (Fatimah *et al.*, 2017). Suhu optimal fermentasi menggunakan *Z. mobilis* yaitu pada suhu 30-34°C (Anggarani *et al.*, 2016)

Tahap Destilasi

Larutan fermentasi didestilasi menggunakan alat destilator, dengan langkah cairan fermentasi dituangkan ke dalam labu ukur lalu dipanaskan hingga suhu 80°C, hasil yang terkondensasi akan dialirkan menuju tabung erlenmeyer untuk ditampung. Proses destilasi dilakukan selama 1,5-2 jam hingga etanol tidak menetes (Seftian *et al.*, 2012).

Pengukuran Kadar Etanol

Destilat diukur menggunakan alkohol meter. Cara pengukurannya yaitu alkoholmeter akan tenggelam dan batas yang tercelup menunjukkan kadar etanol dalam sampel yang diukur. Persentase etanol dapat dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\text{Kadar Etanol} = \frac{\text{Volume Destilat}}{\text{Volume Awal Sampel}} \times \text{Hasil Pengukuran Alkohol Meter}$$

Sumber: Mailool *et al.* (2013).



HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit kacang merupakan limbah pertanian yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan bioetanol. Kulit kacang tanah mengandung selulosa sebesar 63,5%, senyawa selulosa ini apabila dihidrolisis akan mampu menghasilkan glukosa yang dapat dikonversi menjadi bioetanol (Lestari *et al.*, 2018). Adapun parameter yang diamati yaitu pH, kadar gula reduksi, dan kadar bioetanol.

Hasil Uji Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang Tanah Sebelum dan Sesudah Pretreatment Kulit Kacang Tanah

Pretreatment bertujuan untuk memecah molekul lignin yang ada pada struktur luar dari kulit kacang tanah. Lignin membentuk ikatan kovalen dengan selulosa dan hemiselulosa sehingga sukar dipecah pada kondisi normal (Devi *et al.*, 2019).

Tabel 1. Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang Tanah Sebelum dan Sesudah Pretreatment.

| Perlakuan | Kadar Gula Reduksi (g/mL) | | | Rerata Kadar Gula Reduksi (g/mL) |
|-----------------------------|---------------------------|-----------|-----------|----------------------------------|
| | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | |
| Sebelum <i>Pretreatment</i> | 1.21 | 1.20 | 1.17 | 1.19 |
| Sesudah <i>Pretreatment</i> | 0.07 | 0.05 | 0.06 | 0.08 |

Tabel 2. PH Kontrol Sebelum dan Sesudah Pretreatment.

| Perlakuan | Hasil Pengukuran pH | | | Rerata pH |
|-----------------------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | |
| Sebelum <i>Pretreatment</i> | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Sesudah <i>Pretreatment</i> | 7 | 7 | 7 | 7 |

Berdasarkan Tabel 1, kadar gula reduksi kulit kacang tanah sebelum *pretreatment* memiliki rerata sebesar 1,19 g/mL. Kadar gula reduksi kulit kacang tanah sesudah proses *pretreatment* yaitu sebesar 0,08 g/mL. Rerata pH sebelum dan sesudah *pretreatment* adalah sama yaitu 7, dapat dilihat pada Tabel 2. Terjadi penurunan kadar gula reduksi kulit kacang tanah dari sebelum dan sesudah *pretreatment*. Penambahan NaOH 6% pada proses *pretreatment* akan meningkatkan konsentrasi ion hidroksil dalam larutan, sehingga pemutusan ikatan intramolekul lignin selama *pretreatment* dan delignifikasi menjadi lebih cepat maka terjadi penurunan kadar gula reduksi sesudah *pretreatment* (Kodri *et al.*, 2013).

Selama proses *pretreatment*, polimer lignin menurun dan larut. Pelarutan lignin ini disebabkan oleh perpindahan ion hidrogen dari gugus hidroksil pada lignin ke ion hidroksil (Anggorowati & Dewi, 2013). Penurunan kadar gula reduksi sesudah *pretreatment* juga didukung oleh penelitian Muksin & Arpiwi (2019), bahwa kadar gula reduksi lebih rendah dengan perlakuan awal delignifikasi menggunakan NaOH 6% dibandingkan tanpa perlakuan awal pada semua hari pengamatan.

Hasil Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang Tanah Sesudah Perlakuan dengan Crude Enzim *T. reesei* dan *A. niger*

Kadar gula reduksi pada kulit kacang tanah sesudah perlakuan *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* pada Gambar 1 diperoleh rata-rata gula reduksi tertinggi yaitu sebesar 0,14 g/mL, pada perlakuan 5 yaitu rasio *crude* enzim *T.*



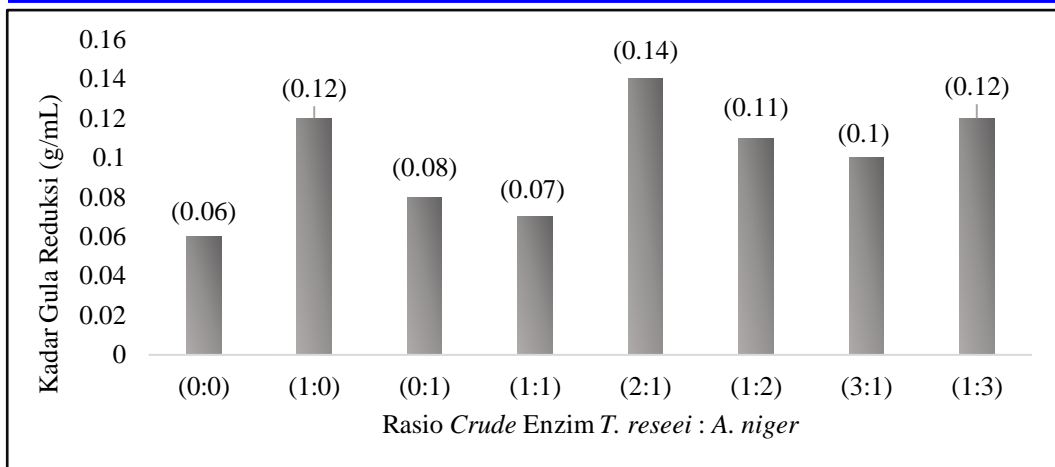
reesei : *A. niger* (2:1) dan diperoleh gula reduksi terendah pada perlakuan 1 yaitu rasio *crude* enzim *T. reesei* : *A. niger* (0:0) yaitu 0,06 g/mL. Kadar gula reduksi mengalami kenaikan sesudah diberi *crude* enzim yang awalnya 0,08 g/mL menjadi 0,14 g/mL.

Peningkatan kadar gula terjadi disebabkan karena kapang *T. reesei* menghasilkan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase hingga 80% tetapi produksi β -glukosidasenya rendah, sedangkan fungi jenis *A. niger* dapat menghasilkan kadar glukosidase yang lebih tinggi dibandingkan endo- β -1,4-glukanase dan ekso- β -1,4-glukanase (Kodri *et al.*, 2013). Kombinasi enzim selulase dari *T. reesei* dan *A. niger* dengan penambahan β -glukosidase yang dihasilkan dari kapang *A. niger* berfungsi mempercepat konversi selobiosa menjadi glukosa (Safari, 2013).

Kadar gula reduksi sesudah diberi perlakuan *crude* enzim dengan rasio optimal pada proses hidrolisis ada pada rasio *crude* enzim (2:1). Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis pada setiap perlakuan dipengaruhi oleh aktivitas enzim selulase dari masing-masing rasio *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger*. Enzim selulase merupakan enzim ekstraseluler yang diproduksi di luar sel mikroorganisme selulolitik. Produk akhir aktivitas ini berupa glukosa dan membentuk kompleks enzim substrat yang dihasilkan dari proses interaksi antara enzim selulase dan substrat selulosa (Safaria *et al.*, 2013).

Enzim selulase dihasilkan dari proses fermentasi kulit kacang tanah akibat dari metabolisme *A. niger* dan *T. reesei*. Enzim selulase mempercepat proses hidrolisis selulosa sehingga menghasilkan lebih banyak gula (Kodri *et al.*, 2013). Enzim selulolitik mampu bekerja sinergis memproduksi glukosa melalui proses hidrolisis. Enzim selulolitik merupakan enzim yang terdiri dari endo- β -1,4-glukanase dan ekso-1,4-glukanase, dan β -glukosidase memutus ikatan rantai dalam selulosa menghasilkan molekul-molekul selulosa yang lebih pendek. Ekso-1,4-glukanase memutus ujung rantai selulosa menghasilkan molekul selobiosa, molekul selobiosa diputus menjadi dua molekul glukosa oleh β -glukosidase (Safaria *et al.*, 2013).

Hasil pengukuran pH rerata sebelum perlakuan *crude* enzim yaitu 7. Sesudah perlakuan *crude* enzim memiliki rerata pH yaitu 7, hal ini menunjukkan tidak ada perubahan pH (derajat keasaman) dari sebelum dan sesudah perlakuan *crude* enzim. pH dengan sifat asam (rendah) merupakan pH yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme, untuk kapang memiliki pH optimalnya adalah antara 5 dan 7, tetapi bisa berkisar antara pH 2 hingga 8,5. Hal ini karena mikroorganisme yang berbeda memiliki tingkat toleransi asam yang berbeda pula. pH yang optimal membantu kerja enzim dalam menstimulasi suatu reaksi dengan baik. Pada pH yang terlalu rendah atau asam, maupun pH yang terlalu tinggi atau basa membuat enzim tidak dapat bekerja (Safaria *et al.*, 2013).



Gambar 1. Diagram Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang Tanah Sesudah Perlakuan Rasio Crude Enzim *T. reesei* dan *A. niger*.

Tabel 3. pH Kadar Gula Reduksi Sesudah Perlakuan Crude Enzim *T. reesei* dan *A. niger*.

| Perlakuan Rasio <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i> | Nilai pH | | | Rerata pH |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | |
| P1 (0:0) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P2 (1:0) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P3 (0:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P4 (1:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P5 (2:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P6 (1:2) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P7 (3:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P8 (1:3) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Rerata | | | | 7 |

Tabel 4. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Perbedaan Rasio Crude Enzim terhadap Rerata Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang.

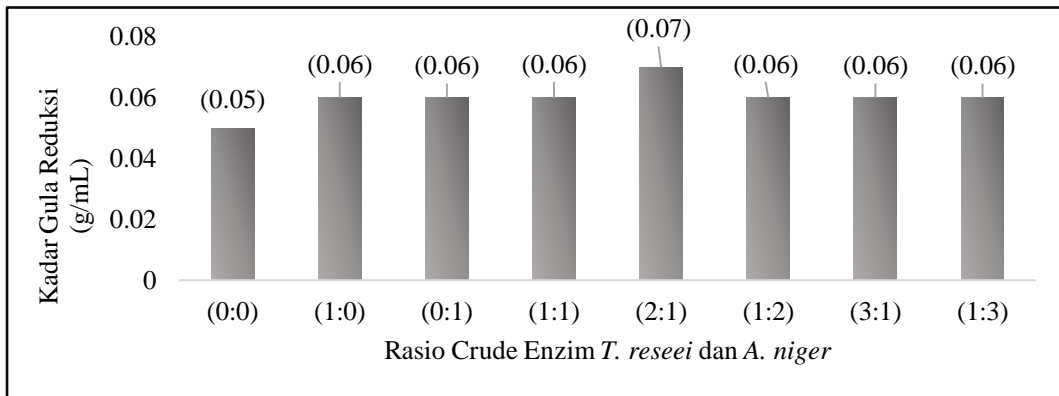
| Kadar Gula Reduksi | Jumlah Kuadrat | df | Rata-rata Tengah | F Hitung | Sig. |
|--------------------|----------------|----|------------------|----------|-------|
| Antara Kelompok | 0.012 | 7 | 0.002 | 7.021 | 0.001 |
| Dalam Kelompok | 0.004 | 16 | 0.000 | | |
| Jumlah | 0.016 | 23 | 0.000 | | |

Berdasarkan pada Tabel 3, pH kadar gula reduksi sesudah perlakuan *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* memiliki rerata pH yang sama yaitu 7. Hasil uji ANOVA pada Tabel 4 menunjukkan nilai signifikansi yaitu 0,001 yang artinya nilai $0,001 < 0,05$. Maka H_0 diterima dan H_1 ditolak. H_0 diterima memperlihatkan bahwa ada perbedaan secara nyata antara rerata gula reduksi terhadap gula reduksi pada tiap perlakuan sesudah pemberian *crude* enzim. Maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* DMRT untuk melihat perbedaan nyata setiap perlakuan. Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa penggunaan rasio *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* menghasilkan tingkat kadar gula reduksi yang berbeda secara nyata dalam sampel kulit kacang tanah yaitu pada perlakuan 5 (rasio *crude* enzim 2:1) memiliki perbedaan nyata terhadap perlakuan yang lain (Gambar 1).

Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang Tanah Sesudah Fermentasi *Zymomonas mobilis*

Berdasarkan pada Gambar 2, kadar gula reduksi kulit kacang tanah sesudah fermentasi dengan *Z. mobilis* memiliki rerata kadar gula reduksi paling tinggi yaitu 0,07 g/mL pada perlakuan P5 rasio *crude* enzim (2:1), dan kadar gula reduksi paling rendah yaitu 0,06 g/mL pada perlakuan P1 rasio *crude* enzim (1:0). Kadar gula reduksi kulit kacang tanah sesudah fermentasi mengalami penurunan yaitu yang awalnya 0,14 g/mL menjadi 0,07 g/mL. Penurunan kadar gula reduksi ini berhubungan dengan pembentukan etanol yang terjadi saat fermentasi. Penurunan gula reduksi disebabkan karena *Z. mobilis* membutuhkan substrat untuk pertumbuhan, *Z. mobilis* akan mengkonsumsi gula untuk beraktivitas sehingga etanol dapat dihasilkan (Rahmadani *et al.*, 2017).

Faktor yang mempengaruhi pada proses fermentasi gula menjadi bioetanol oleh *Z. mobilis* salah satunya adalah pH. Mikroorganisme dapat tumbuh dan bermetabolisme dengan baik jika berada di lingkungan hidup yang sesuai. Nilai pH optimal *Zymomonas mobilis* pada proses fermentasi yaitu berkisar antara pH 4,0-7,0 (Ramadhani, 2015). Berdasarkan pada Tabel 5 menunjukkan bahwa pH yang diukur sesudah proses fermentasi tidak mengalami perubahan yaitu tetap dengan pH 7 (normal). Menurut penelitian Ernes & Wardani (2014), hal tersebut kurang sesuai karena adanya penurunan nilai pH sesudah fermentasi disebabkan pada saat produksi etanol oleh *Z. mobilis* dihasilkan produk sampingan lain yaitu asam format juga asam laktat hasil dari degradasi piruvat.



Gambar 2. Diagram Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang Tanah Sesudah Perlakuan Rasio *Crude* Enzim *T. reesei* dan *A. Niger*.

Tabel 5. pH Kadar Gula Reduksi Sesudah Fermentasi *Zymomonas mobilis*.

| Perlakuan Rasio <i>T. reesei</i> dan <i>A. niger</i> | Nilai pH | | | Rerata pH |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | |
| P1 (0:0) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P2 (1:0) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P3 (0:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P4 (1:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P5 (2:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P6 (1:2) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P7 (3:1) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| P8 (1:3) | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Rerata | | | | 7 |

Tabel 6. Uji ANOVA Pengaruh Fermentasi *Z. mobilis* terhadap Rerata Kadar Gula Reduksi Kulit Kacang.

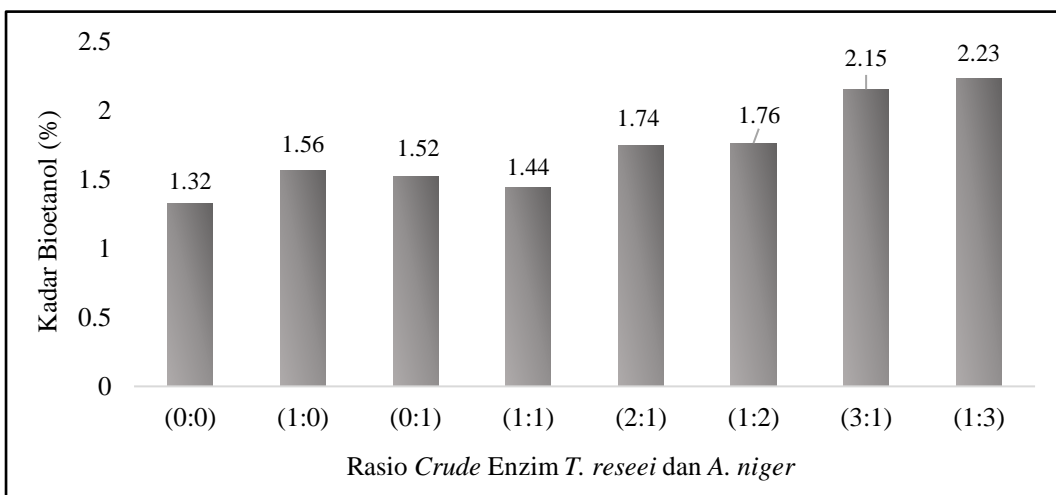
| Kadar Gula Reduksi | Jumlah Kuadrat | df | Rata-rata Tengah | F Hitung | Sig. |
|--------------------|----------------|----|------------------|----------|-------|
| Antara Kelompok | 0.000 | 7 | 0.000 | 2.950 | 0.035 |
| Dalam Kelompok | 0.000 | 16 | 0.000 | | |
| Jumlah | 0.000 | 23 | 0.000 | | |

Hasil analisis uji *One Way ANOVA* pada Tabel 6 diketahui nilai signifikansi yaitu 0,035 yang berarti nilai $0,035 < 0,05$. Maka H_0 diterima dan H_1 ditolak. H_0 diterima menyatakan bahwa ada perbedaan nyata antara rerata gula reduksi terhadap gula reduksi setiap perlakuan sesudah fermentasi.

Kadar Etanol Kulit Kacang Tanah Sesudah Fermentasi Menggunakan *Zymomonas mobilis*

Berdasarkan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa kadar bioetanol paling tinggi ada pada perlakuan P8 rasio *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* (1:3) yaitu sebesar 2,23%, dan kadar bioetanol paling rendah ada pada perlakuan P1 rasio *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* (0:0) yaitu sebesar 1,32%. Hal tersebut memiliki relevansi dengan hasil penelitian Santi & Widyaningrum (2022) yaitu memiliki kadar etanol tertinggi sebesar 2,34% terdapat pada rasio *crude* enzim *T. reesei* dan *A. niger* (2:1) dan pada perlakuan P1 rasio (0:0) memiliki kadar bioetanol terendah. Hal tersebut disebabkan karena bakteri *Zymomonas mobilis* melalui jalur metabolik *Entner-Doudoroff* mampu mendegradasi fruktosa, glukosa, atau sukrosa sebagai sumber karbon.

Entner-Doudoroff merupakan jalur glikolisis yang digunakan oleh *Z. mobilis* pada proses fermentasi, yang akan mengubah glukosa menjadi satu molekul energi berupa ATP dan dua molekul bioetanol (Febriani *et al.*, 2020). Oleh karena itu, *Z. mobilis* memiliki kecepatan tinggi untuk menguraikan glukosa yang diakibatkan oleh energi yang dihasilkan (Kusumaningati *et al.*, 2013). Energi ATP yang dihasilkan lebih rendah mengakibatkan massa sel yang dihasilkan lebih rendah dan etanol yang dihasilkan lebih tinggi (Hanidah *et al.*, 2017).



Gambar 3. Diagram Kadar Gula Reduksi Sesudah Perlakuan Fermentasi *Zymomonas mobilis*.



Tabel 7. Uji One Way ANOVA Kadar Etanol Kulit Kacang Tanah.

| Kadar Gula Reduksi | Jumlah Kuadrat | df | Rata-rata Tengah | F Hitung | Sig. |
|--------------------|----------------|----|------------------|----------|-------|
| Antara Kelompok | 4.544 | 7 | 0.649 | 0.916 | 0.520 |
| Dalam Kelompok | 11.344 | 16 | 0.709 | | |
| Jumlah | 15.888 | 23 | | | |

Berdasarkan hasil analisis uji *One Way ANOVA* pada Tabel 7, kadar bioetanol sesudah fermentasi *Zymomonas mobilis* diketahui nilai signifikansi yaitu 0,001 yang berarti nilai 0,520 > 0,05. Maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata kadar etanol pada setiap perlakuan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, rasio *crude* enzim selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* berpengaruh terhadap kadar gula dan bioetanol hasil fermentasi kulit kacang tanah. Rasio *crude* enzim dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* yang menghasilkan kadar gula reduksi tertinggi adalah pada perlakuan P5 rasio *crude* enzim *T. reesei* : *A. niger* (2:1) yaitu 0,14 g/mL sesudah perlakuan *crude* enzim, dan kadar etanol hasil fermentasi kulit kacang tanah tertinggi adalah pada perlakuan P8 rasio *crude* enzim *T. reesei* : *A. niger* (1:3) yaitu 2,23%.

SARAN

Saran penulis perlu dilakukan penelitian lanjutan yang berkaitan dengan kondisi optimum *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* (pH dan suhu) dalam menghidrolisis selulosa dari kulit kacang tanah ini, sehingga mendapatkan kadar glukosa yang tinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ibu Dr. Trianik Widyaningrum, M.Si., yang telah memberikan bimbingan selama penelitian. Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Ahmad Dahlan. Kepala serta Staff Laboratorium Riset, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Ahmad Dahlan, serta pihak-pihak yang telah berkontribusi membantu selama penelitian.

DAFTAR RUJUKAN

- Andana, D. S., Jannah, H., & Safnowandi. (2023). Pemanfaatan Bintil Akar Kacang Tanah (*Arachis hypogaea*) sebagai Pupuk Biologi untuk Pertumbuhan Bibit Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) dalam Upaya Penyusunan Petunjuk Praktikum Fisiologi Tumbuhan II. *Biocaster : Jurnal Kajian Biologi*, 3(1), 1-10. <https://doi.org/10.36312/bjkb.v3i1.145>
- Anggarini, S., Pulungan, M. H., Wignyanto., Hidayat, N., Nurika, I., & Ihwah, A. (2016). Effect of Temperature Stress and Metal Ion Supplement on Ethanol Fermentation by *Zymomonas mobilis*. *Industria : Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 125-131.



<https://doi.org/10.21776/ub.industria.2016.005.03.2>

- Anggorowati, D. A., & Dewi, B. K. (2013). Pembuatan Bioetanol dari Limbah Sabut Kelapa dengan Metode Hidrolisis Asam dan Fermentasi dengan Menggunakan Ragi Tape. *Industri Inovatif*, 3(2), 9-13.
- Devi, D., Astutik, D., Cahyanto, M. N., & Djaafar, T. F. (2019). Kandungan Lignin, Hemiselulosa dan Selulosa Pelempah Salak pada Perlakuan Awal Secara Fisik Kimia dan Biologi. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem*, 7(2), 273-282. <https://doi.org/10.29303/jrpb.v7i2.148>
- Eka, S., Erfiani, E., & Sulfira, S. (2014). Pengelolaan *Manihot esculenta* Menjadi Bioethanol yang Ramah Lingkungan sebagai Alternatif Pengganti Bahan Bakar Minyak (BBM). *Jurnal Pena*, 1(1), 63-72. <https://doi.org/10.26618/jp.v1i1.64>
- Ernes, A., & Wardani, A. K. (2014). Pembuatan Bioetanol dari Pati Biji Nangka oleh *Zymomonas mobilis* CP4 (Kajian Konsentrasi Inokulum dan Amonium Sulfat). *Jurnal Agrina*, 01(01), 5-13.
- Fatimah., Ginting, D., & Sirait, V. (2017). Kinerja Mikroba *Zymomonas mobilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* untuk Menguraikan Hidrolisat Tongkol Jagung Menjadi Bioetanol dengan Pengaruh Waktu Fermentasi dan Rasio Penambahan Mikroba. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 6(2), 1-6. <https://doi.org/10.32734/jtk.v6i2.1575>
- Febriani, Y., Sidharta, B. R., & Pranata, F. S. (2020). Produksi Bioetanol Pati Umbi Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) dengan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi *Zymomonas mobilis*. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Hayati*, 5(2), 92-98. <https://doi.org/10.24002/biota.v5i2.2506>
- Ferdiansyah, H., Sumarlan, S. H., & Argo, D. B. (2015). Hidrolisis Enzimatik Menggunakan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* pada Produksi Bioetanol Jerami Padi. *Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem*, 3(2), 211-216.
- Hanidah, I. -I., Safitri, R., & Subroto, T. (2016). Alternatif Fermentasi Bio-Etanol dari Bagas Tebu oleh *Zymomonas mobilis*. *Jurnal Penelitian Pangan*, 1(1), 27-30. <https://doi.org/10.24198/jp2.2016.vol1.1.05>
- Kodri., Argo, B. D., & Yulianingsih, R. (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), 36-43.
- Kusumaningati, M. A., Nurhatika, S., & Muhibuddin, A. (2013). Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas mobilis* dan Lama Fermentasi pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(2), E218-E223. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v2i2.4298>
- Lestari, M. D. (2018). Ekstraksi Selulosa dari Limbah Pengolahan Agar Menggunakan Larutan NaOH sebagai Prekursor Bioetanol. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 236-241. <https://doi.org/10.15294/usej.v10i2.43727>
- Mailool, J. C., Molenaar, R., Tooy, D., & Longdong, I. A. (2013). Production of



- Bioethanol from Cassava (*Manihot utilissima*) with Laboratory Scale. *Cocos*, 2(1), 1-11.
- Muin, R., Lestari, D., & Sari, T. W. (2015). Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Biji Alpukat. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(4), 1-7.
- Muhsin, I. K., & Arpiwi, N. L. (2019). Bioetanol dari Kulit Pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak. *Metamorfosa : Journal of Biological Sciences*, 6(1), 106-112. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2019.v06.i01.p17>
- Oktasari, A. (2018). Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) sebagai Adsorben Ion Pb(II). *Alkimia : Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 2(1), 17-27. <https://doi.org/10.19109/alkimia.v2i1.2258>
- Pusat Data dan Informasi Pertanian. (2020). *Data Produksi Tanaman Pangan Utama di Indonesia*. Jakarta: Kementerian Pertanian.
- Rahmadani, S., Muria, S. R., & Utami, S. P. (2017). Produksi Bioetanol dari Mahkota Nanas Menggunakan Bakteri *Zymomonas mobilis* dengan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Penambahan Nutrisi. *Jurnal Fakultas Teknik Kimia*, 4(2), 1-6.
- Ramadhani, P. (2015). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Plantaxia.
- Rosita, B. (2017). Pemanfaatan Limbah Kulit Kentang (*Solanum tuberosum* L.) untuk Pembuatan Bioetanol dengan Metode Hidrolisa Asam (HCL). *Jurnal Kesehatan Perintis*, 4(1), 26-32.
- Safari, M. (2013). Aspergillosis : Interactions of *Aspergillus fumigatus* and Human Airway Cells. *Disertation*. University of Westminster School of Life Sciences.
- Safaria, S., Idawati, N., & Zaharah, T. A. (2013). Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *Jurnal Hasil Riset*, 2(1), 46-51.
- Santi, S. N., & Widyaningrum, T. (2022). Produksi Bioetanol dari Limbah Batang Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) Menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan Perlakuan Crude Enzim *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Jurnal Biologus*, 5(1), 18-23. <http://dx.doi.org/10.30821/biolokus.v5i1.1260>
- Seftian, D., Antonius, F., & Faizal, M. (2012). Pembuatan Etanol dari Kulit Pisang Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatis dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 18(1), 23-36.
- Widyaningrum, T., & Parahadi, M. (2020). Bioethanol Levels of Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Peel with the Addition of Blend Crude Cellulase Enzyme from *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 5(1), 1-5. <https://doi.org/10.22146/jtbb.52189>
- Widyaningrum, T., Prastowo, I., Parahadi, M., & Indriyanti, E. (2017). Production of Bioethanol from *Sargassum crassifolium* Using Cellulase Enzymes from *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger*. In *International Conference on Natural and Social Sciences 2017* (pp. 159-162). Makassar, Indonesia: Palopo Cokroaminoto University.



Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi

E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006

Volume 11, Issue 2, December 2023; Page, 1615-1629

Email: bioscientist@undikma.ac.id

- Widyastanti, S., & Widyaningrum, T. (2022). Produksi Bioetanol Limbah Nasi Aking Fermentasi Menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan Perlakuan Konsentrasi Crude Enzim *Bacillus amyloliquefaciens*. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(2), 901-908. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i2.6249>
- Wulandari, S., Nisa, Y., Taryono., Indarti, S., & Sayekti, R. (2021). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), 16-19. <https://doi.org/10.22146/a.77010>