

LAMPIRAN



LAMPIRAN A

PEMBUATAN LARUTAN

A.1. Pembuatan Larutan DNS (Dinitrosalicylic acid) 1% untuk Metode CMC-ase

1. Ditimbang DNS (Dinitrosalicylic acid) sebanyak 1 gram, natrium sulfit (Na_2SO_3) sebanyak 0,05 gram, fenol sebanyak 0,2 gram dan natrium hidroksida (NaOH) sebanyak 1 gram menggunakan neraca analitis pada *beaker glass*.
2. Kemudian aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 100 ml.
3. Larutan diaduk sampai homogen.

A.2. Pembuatan Larutan Kalium Natrium Tartat 40%

1. Kalium natrium tartrat ditimbang sebanyak 20 gram dengan menggunakan neraca kasar pada kaca arloji dan dipindahkan ke dalam *beaker glass*.
2. Kemudian aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 50 ml.
3. Larutan diaduk sampai homogen.

A.3. Pembuatan Nutrien ^[5]

1. Amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) sebanyak 0.2 gram, kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) sebanyak 0.06 gram, dan magnesium sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ditimbang sebanyak 0,01 gram menggunakan neraca analitis pada *beaker glass*.
2. Kemudian aquades sebanyak 20 ml ditambahkan ke dalam beaker glass.

3. Larutan diaduk sampai homogen dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

A.4. Pembuatan Larutan Tween 80 0,01% ^[33]

1. Larutan Tween 80 dipipet sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam *beaker glass*.
2. Aquades ditambahkan ke dalam beaker glass sampai volumenya mencapai 1000 mL.
3. Larutan diaduk sampai homogen.

A.5. Pembuatan Larutan Buffer Asetat dengan pH 4,8

1. Pembuatan larutan asam asetat 0.2 M (larutan A) :
 - Asam asetat glasial (CH_3COOH) diukur sebanyak 11,55 mL dengan gelas ukur dan dipindahkan ke dalam *beaker glass*.
 - Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 1000 mL.
 - Larutan diaduk sampai homogen.
2. Pembuatan larutan natrium asetat 0.2 M (larutan B):
 - Natrium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ditimbang sebanyak 27.2 gram menggunakan neraca kasar pada kaca arloji.
 - Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 1000 mL.
 - Larutan diaduk sampai homogen.
3. 20 mL larutan A and 30 mL larutan B diletakkan pada *beaker glass*.
4. Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 100 mL.
5. Larutan diaduk sampai homogen.

A.6. Pembuatan Larutan CMC 1% ^[21]

1. CMC ditimbang sebanyak 1 gram menggunakan neraca kasar pada kaca arloji dan dipindahkan ke dalam *beaker glass*.
2. Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 100 mL.
3. Larutan diaduk sampai homogen.

A.7. Pembuatan Larutan NaOH 0,25 N

1. Ditimbang 10 gram natrium hidroksida (NaOH) menggunakan neraca kasar pada kaca arloji dan dipindahkan ke dalam *beaker glass*.
2. Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 1000 mL.
3. Larutan diaduk sampai homogen.

A.8. Pembuatan Larutan HCl 0,1 N

1. Asam klorida (HCl) pekat diukur sebanyak 8,3 mL dengan gelas ukur.
2. *Beaker glass* kosong diisi dengan aquades (volume kurang dari 1 liter).
3. Asam klorida pekat dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi aquades secara perlahan-lahan dilewatkan pada dinding dari *beaker glass*.
4. Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 1000 mL.
5. Larutan diaduk sampai homogen.

A.9. Pembuatan Larutan H₂C₂O₄ ± 0,2561 N

1. Asam oksalat dihidrat ditimbang sebanyak 1,6142 gram (H₂C₂O₄·2H₂O) menggunakan neraca analitis pada botol timbang.
2. Ditambahkan aquades pada botol timbang dan diaduk.
3. Larutan tersebut dituang ke *beaker glass* dari botol timbang.

- Langkah 1 dan 2 diulang sebanyak 2 kali.
- Ditambahkan aquades pada beaker glass (volume kurang dari 100 mL) dan diaduk sampai homogen.
- Larutan pada beaker glass dituang pada labu ukur 100 mL.
- Ditambahkan aquades sampai volume tepat 100 mL dan larutan dikocok sampai homogen.

A.10. Pembuatan Larutan NaOH 0,313 N

- Ditimbang natrium hidroksida sebanyak 2,504 gram menggunakan neraca kasar pada kaca arloji dan dipindahkan ke dalam *beaker glass*.
- Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 200 mL.
- Larutan diaduk sampai homogen.

A.11. Pembuatan Larutan H₂SO₄ 0,255 N

- Asam sulfat pekat diukur sebanyak 1,4 mL dengan gelas ukur.
- Beaker glass* kosong diisi dengan aquades (volume kurang dari 200 mL).
- Asam sulfat pekat dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi aquades secara perlahan-lahan dilewatkan pada dinding dari *beaker glass*.
- Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 200 mL.
- Larutan diaduk sampai homogen.

A.12. Pembuatan Larutan K₂SO₄ 10%

- Ditimbang kalium sulfat sebanyak 11,1 gram menggunakan neraca kasar pada kaca arloji dan dipindahkan ke dalam *beaker glass*.
- Aquades ditambahkan ke dalam *beaker glass* sampai volumenya 100 mL.
- Larutan diaduk sampai homogen.

LAMPIRAN B

ANALISA BAHAN BAKU

B.1. Analisa Kadar Air

1. Serbuk tongkol jagung untuk masing-masing *pretreatment* dimasukkan ke dalam alat *Moisture Determination Balance* sebanyak 10 gram.
2. Kemudian alat *Moisture Determination Balance* dijalankan, berat serbuk tongkol jagung dan kadar air diamati sampai konstan.

Dari percobaan diatas didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel B.1. Kadar air dari berbagai macam *pretreatment*

Perlakuan	Kadar Air
<i>Untreatment</i>	5,9 %
<i>Pretreatment</i> fisika (<i>steam explosion</i>)	5,5 %
<i>Pretreatment</i> kimia (larutan HCl)	5,2 %

B.2. Analisa Kadar Abu

1. Krus porselen dibakar dalam *muffle furnace* pada suhu 650 °C sampai beratnya konstan.
2. Serbuk tongkol jagung untuk masing-masing perlakuan ditimbang sebanyak 2 gram dalam krus porselen yang beratnya sudah konstan dengan neraca analitis.
3. Kemudian krus porselen yang telah berisi serbuk tongkol jagung dibakar di *muffle furnace* dengan suhu 650 °C selama 30 menit.
4. Setelah 30 menit, krus porselen dikeluarkan dari *muffle furnace*, lalu dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit.
5. Setelah 15 menit, krus porselen dikeluarkan dari desikator dan ditimbang dengan neraca analitis.

6. Cara kerja nomor 3-5 diulang beberapa kali sampai berat dari krus porselen yang berisi serbuk tongkol jagung konstan.

Analisa sampel

Contoh untuk *untreatment* :

Berat krus porselen konstan = 31,8814 gram

Berat krus porselen + serbuk tongkol jagung mula-mula = 33,7380 gram

Berat serbuk tongkol jagung mula-mula = 1,8566 gram

Berat krus porselen + abu setelah konstan = 31,9097 gram

Berat abu = 31,9097 – 31,8814 = 0,0224 gram

Kadar abu = (0,0224 gram / 1,8566 gram) x 100% = 1,21 %

Dengan cara perhitungan yang sama untuk *pretreatment* fisika (*steam explosion*) dan *pretreatment* kimia (larutan HCl 2 N) didapatkan kadar abu sebagai berikut :

Tabel B.2. Kadar abu dari berbagai macam *pretreatment*

Perlakuan	Kadar Abu
<i>Untreatment</i>	1,21 %
<i>Pretreatment</i> fisika (<i>steam explosion</i>)	2,41 %
<i>Pretreatment</i> kimia (larutan HCl)	0,74 %

B.3. Analisa Kadar Protein (Metode Kjeldahl) ^[34]

1. 2 gram serbuk tongkol jagung ditimbang dengan neraca analitis dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl.
2. Ke dalam labu Kjeldahl ditambahkan 10 mL larutan H₂SO₄ pekat, dan setengah tablet Kjeldahl.
3. Semua bahan dalam labu Kjeldahl dipanaskan pada suhu 350°C dalam rangkaian alat Kjeldahl sampai larutan berwarna hijau muda. Setelah itu dikeluarkan dan didinginkan pada suhu 30°C.
4. Kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu distilasi dan ditambahkan 10 mL larutan NaOH 0,25 N.

5. Larutan tersebut didestilasi hingga larutan yang terdapat dalam labu distilasi habis.
6. Distilat yang keluar ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi 50 mL larutan HCl dengan konsentrasi 0,1 N dan 2 tetes indikator PP.
7. Distilat yang diperoleh dititrasi dengan larutan standar NaOH 0,25 N hingga larutan berwarna merah muda.
8. Dibuat juga larutan blangko dengan mengganti serbuk tongkol jagung dengan aquades kemudian dilakukan seperti langkah 1 sampai 7

$$\% N = \frac{ml \text{ NaOH blangko} - ml \text{ NaOH sampel}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} \times N_{NaOH} \times 14,008 \times 100\%$$

$$\% \text{ Protein} = \% N \times \text{faktor (untuk tongkol jagung = 6,25)}$$

Pembakuan larutan NaOH 0,25 N dengan larutan standar H₂C₂O₄ 0,2561 N

Tabel B.3. Volume larutan NaOH untuk pembakuan larutan standar H₂C₂O₄

Volume H ₂ C ₂ O ₄ (a), mL	Volume NaOH (b), mL	Volume NaOH rata-rata, mL
10	10,50	10,55
10	10,60	

$$V \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \times N \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_4 = V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH}$$

$$10 \times 0,2561 = 10,55 \times N \text{ NaOH}$$

$$N \text{ NaOH} = 0,2427 \text{ N}$$

Analisa sampel

Volume blangko = 20,50 mL

Contoh untuk *untreatment* :

Tabel B.4. Volume larutan NaOH 0,25 N untuk menitrasi sampel dalam penentuan kadar protein

Berat sampel (gr)	Volume NaOH (mL)	% N
2,1241	20,40	0,016
2,1225	20,30	0,032
	% N rata-rata	0,024

$$\begin{aligned} \% \text{ Protein} &= \% \text{N} \times 6,25 \\ &= 0,024 \times 6,25 \\ &= 0,15 \% \end{aligned}$$

Dengan cara perhitungan yang sama untuk *pretreatment* fisika (*steam explosion*) dan *pretreatment* kimia (larutan HCl 2 N), didapatkan kadar protein sebagai berikut :

Tabel B.5. Kadar protein dari berbagai macam *pretreatment*

Perlakuan	Kadar Protein
<i>Untreatment</i>	0,15 %
<i>Pretreatment</i> fisika (<i>steam explosion</i>)	0,10 %
<i>Pretreatment</i> kimia (larutan HCl)	0,08 %

B.4. Analisa Kadar Lemak^[35]

B.4.1. Persiapan Sampel

1. Ditimbang 3 gram serbuk tongkol jagung dalam erlenmeyer dengan neraca analitis.
2. Ditambahkan 20 mL larutan HCl pekat secara perlahan-lahan pada erlenmeyer.
3. Kemudian erlenmeyer dipanaskan dalam penangas air yang bersuhu 70 °C selama 30 menit
4. Erlenmeyer dikocok tiap 5 menit.
5. Setelah 30 menit, erlenmeyer dikeluarkan dari penangas air dan didinginkan pada suhu kamar.

B.4.2. Prosedur analisa

1. Ke dalam erlenmeyer yang telah didinginkan ditambahkan 25 mL petroleum eter dan dicampur.
2. Ditambahkan 25 mL petroleum eter dan dibiarkan sampai solven jernih.
3. Diambil larutan eter dan lemak dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah ditimbang.
4. Eter diuapkan perlahan-lahan dalam penangas air, kemudian dikeringkan lemak pada 100°C dengan oven \pm 90 menit
5. Kemudian erlenmeyer didinginkan selama 30 menit dalam ruangan dan ditimbang.

Analisa sampel

Berat serbuk tongkol jagung = 3,1550 gram

Berat erlenmeyer = 115,1025 gram

Berat erlenmeyer + lemak = 114,1228 gram

Berat lemak = 0.0203 gram

Kadar lemak = $(0.0203 \text{ gram} / 3,1550 \text{ gram}) \times 100\% = 0,64 \%$

Dengan cara perhitungan yang sama untuk *pretreatment* fisika (*steam explosion*) dan *pretreatment* kimia (larutan HCl 2 N), didapatkan kadar lemak sebagai berikut :

Tabel B.6. Kadar lemak dari berbagai macam *pretreatment*

Perlakuan	Kadar Lemak
<i>Untreatment</i>	0,64 %
<i>Pretreatment</i> fisika (<i>steam explosion</i>)	0,44 %
<i>Pretreatment</i> kimia (larutan HCl)	0,58 %

B.5. Analisa Kadar Selulosa ^[34]

1. Ditimbang serbuk tongkol jagung sebanyak 2 gram dengan neraca analitis.
2. Serbuk tongkol jagung dimasukkan ke dalam *iodine flask* yang berisi larutan H_2SO_4 0,255 N mendidih sebanyak 200 mL, kemudian ditutup dengan pendingin balik dan dididihkan selama 30 menit sambil diaduk.
3. Suspensi disaring melalui kertas saring dan residu yang tertahan pada kertas saring dicuci dengan aquades mendidih sampai residu yang tertahan pada kertas saring tidak bersifat asam lagi.
4. Residu yang tertahan pada kertas saring dipindahkan secara kuantitatif ke dalam *iodine flask* dengan spatula, setelah itu ditambahkan larutan NaOH 0,313 N mendidih sebanyak 200 mL dan dididihkan selama 30 menit dengan pendingin balik sambil diaduk.
5. Setelah 30 menit, residu disaring melalui kertas saring yang sudah diketahui beratnya, kemudian residu dicuci dengan larutan K_2SO_4 10 %. Residu dicuci lagi dengan aquades mendidih dan terakhir residu dicuci dengan 20 mL alkohol 95%.
6. Kertas saring dan residu ditimbang dengan neraca analitis.

Analisa sampel

Contoh untuk *untreatment* :

Berat serbuk tongkol jagung mula-mula = 2,1023 gram

Berat kertas saring = 0,3015 gram

Berat kaca arloji = 31,8917 gram

Berat kertas saring + kaca arloji + residu = 32,7333 gram

Berat residu = (Berat kertas saring + kaca arloji + residu) – (Berat kertas saring + kaca arloji)

$$= 32,7333 \text{ gram} - 32,1932 \text{ gram}$$

$$= 0,5401 \text{ gram}$$

% selulosa = (berat residu / berat serbuk tongkol jagung mula-mula) x 100%

$$= (0,5401 \text{ gram} / 2,1023 \text{ gram}) \times 100\%$$

$$= 25,68 \%$$

Dengan cara perhitungan yang sama untuk *pretreatment* fisika (*steam explosion*) dan *pretreatment* kimia (larutan HCl 2 N), didapatkan kadar selulosa sebagai berikut :

Tabel B.7. Kadar selulosa dari berbagai macam *pretreatment*

Perlakuan	Kadar Selulosa
<i>Untreatment</i>	25,68 %
<i>Pretreatment</i> fisika (<i>steam explosion</i>)	25,55 %
<i>Pretreatment</i> kimia (larutan HCl)	24,76 %



LAMPIRAN C

KURVA STANDAR GLUKOSA (METODE DNS)

1. Glukosa ditimbang sebanyak 0,0577 gram dengan menggunakan neraca analitis.
2. Glukosa dilarutkan dengan aquades dalam *beaker glass* hingga volumenya kurang dari 100 mL.
3. Larutan glukosa dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades hingga volume larutan tepat 100 mL, lalu larutan tersebut dikocok hingga homogen.
4. Dilakukan pengenceran dengan cara sebagai berikut :
 - Larutan glukosa yang didapatkan dari langkah (3) dipipet sebanyak 5 mL menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL.
 - Kemudian ke dalam labu ukur tersebut ditambahkan aquades hingga volume larutan tepat 10 mL dan larutan tersebut dikocok hingga homogen.
5. Larutan glukosa dipipet dari labu ukur sebanyak 1 mL dengan pipet volume dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
6. Ditambahkan larutan DNS 1% sebanyak 3 mL dengan menggunakan pipet volume dan dipanaskan dalam *water bath* selama 5 menit.
7. Ditambahkan larutan kalium natrium tartrat 40% sebanyak 1 mL dengan menggunakan pipet volume dan kemudian didinginkan
8. Larutan yang diperoleh dari langkah (7) dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada berbagai panjang gelombang (dari 500-540 nm)

dan didapatkan hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang. (tabel C.1 dan Gambar C.1)

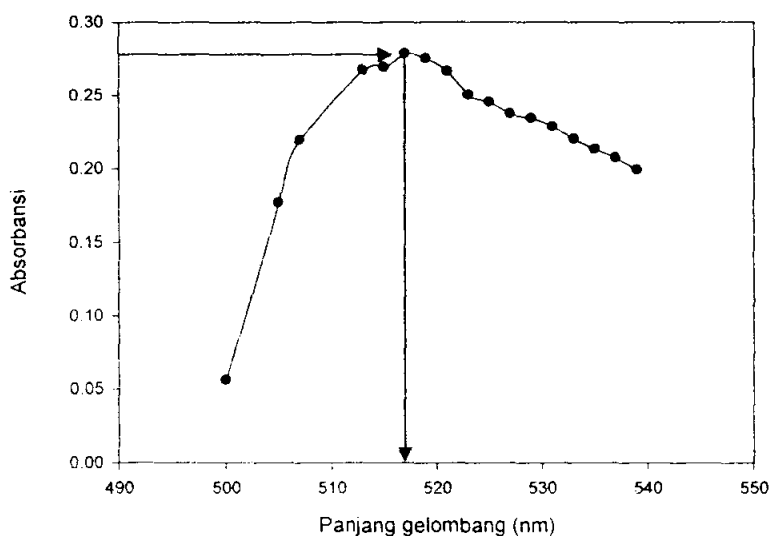
9. Pembuatan larutan induk kedua :
 - a. Glukosa sebanyak 0,0244 gram ditimbang dalam botol timbang dengan menggunakan neraca analitis.
 - b. Glukosa sebanyak 0,0244 gram dilarutkan dengan aquades sampai volumenya kurang dari 25 mL dalam *beaker glass*.
 - c. Larutan glukosa tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan aquades ditambahkan hingga volume larutan tepat 25 mL dan larutan tersebut dikocok hingga homogen
10. Konsentrasi glukosa dibuat lima variasi dengan melarutkan larutan induk pertama dengan aquades :
 - a. Larutan induk pertama diambil sebanyak 2, 4, 6 dan 8 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur yang masing-masing volumenya 10 mL.
 - b. Kemudian aquades ditambahkan ke masing-masing labu ukur sampai volumenya mencapai 10 mL
11. Konsentrasi glukosa dibuat dua variasi dengan melarutkan larutan induk kedua dengan aquades :
 - a. Larutan induk kedua diambil 8 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur masing-masing volumenya 10 mL.
 - b. Kemudian aquades ditambahkan ke masing-masing labu ukur sampai volumenya mencapai 10 mL.
12. Larutan glukosa dari masing-masing labu ukur dipipet sebanyak 1 mL dengan pipet volume dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi.

13. Larutan DNS 1% dipipet sebanyak 3 mL dengan menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi 1 mL glukosa dan kemudian dipanaskan dalam *water bath* selama 5 menit.
14. Setelah dipanaskan di *water bath*, larutan kalium natrium tartrat 40% dipipet sebanyak 1 mL dengan menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi larutan glukosa dan DNS, kemudian didinginkan.
15. Untuk setiap konsentrasi glukosa yang bervariasi, absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer dan ditentukan kurva standar dari konsentrasi glukosa dengan metode DNS. (Tabel C.2 dan Gambar C.2)

Tabel C.1. Hasil pengukuran absorbansi glukosa pada berbagai panjang gelombang

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
500	0,056
505	0,177
507	0,219
513	0,267
515	0,269
517	0,278
519	0,275
521	0,266
523	0,250
525	0,245
527	0,237
529	0,234
531	0,228
533	0,220
535	0,213
537	0,207
539	0,199

Dari data pada tabel C.1 dapat dibuat grafik hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi dari analisa glukosa seperti terlihat pada Gambar C.1:



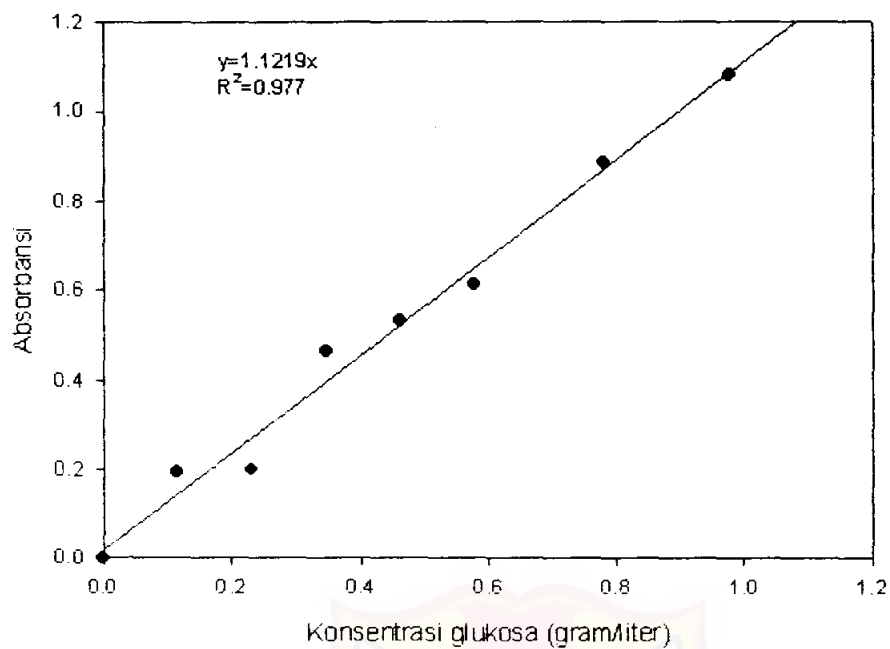
Gambar C.1. Hubungan antara panjang gelombang (nm) dan absorbansi dari analisa glukosa dengan metode DNS

Dari gambar diatas, dapat diketahui panjang gelombang maksimum dari analisa glukosa dengan metode DNS adalah 517 nm.

Tabel C.2. Absorbansi glukosa pada panjang gelombang 517 nm dengan metode DNS

Konsentrasi (gram/Liter)	Absorbansi
0,1154	0,193
0,2308	0,200
0,3462	0,464
0,4616	0,532
0,5770	0,612
0,7808	0,887
0,9760	1,080

Dari data pada tabel C.2. dapat dibuat grafik hubungan antara konsentrasi glukosa dan absorbansi seperti terlihat pada Gambar C.2 :



Gambar C.2. Kurva standar glukosa ($\lambda=517\text{ nm}$)

Persamaan regresi linier yang didapat dari gambar C.2. adalah :

$$\text{Absorbansi} = 1,1219 \times C_{\text{glukosa}} \text{ (g/L)} \dots\dots\dots \text{(C.1)}$$

LAMPIRAN D**KURVA PERTUMBUHAN DARI *Trichoderma reesei* PADA
*POTATO DEXTROSE BROTH (PDB)*****D.1. Pembuatan Media *Potato Dextrose Broth (PDB)***

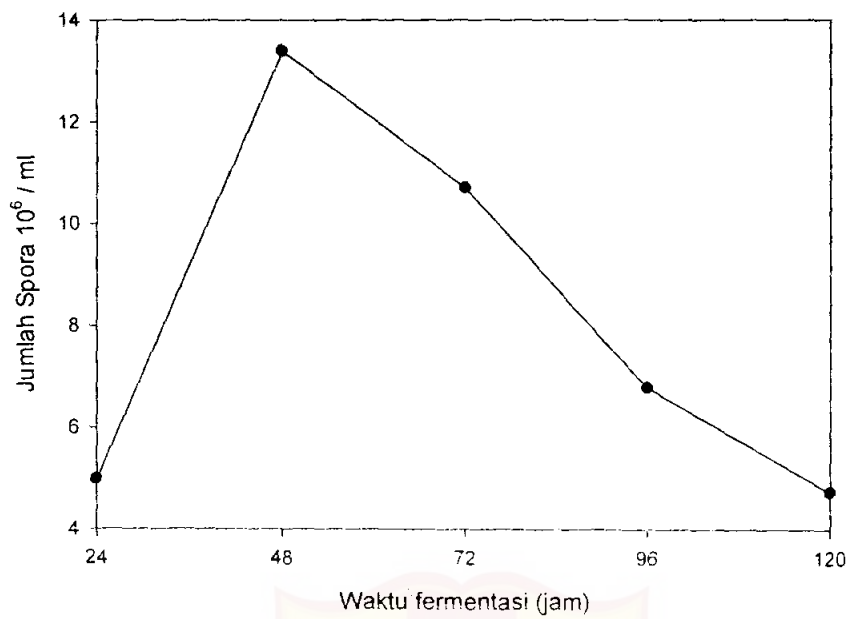
1. *Potato Dextrose Broth (PDB)* ditimbang sebanyak 0,6 gram dengan menggunakan neraca kasar.
2. PDB dilarutkan dalam 25 ml aquades panas dan larutan diaduk sampai homogen.
3. Larutan dituang ke dalam 5 tabung reaksi, lalu disterilisasi.

D.2. Pembuatan Kurva Pertumbuhan *Trichoderma Reesei*

1. Spora *Trichoderma reesei* diambil menggunakan ose secara aseptik dan dibiakkan pada PDB dengan cara menggesekkan ose secara merata pada larutan PDB, lalu ditutup dengan sumbat.
2. Kemudian *Trichoderma reesei* tersebut diinkubasikan pada suhu 30 °C selama 5 hari.
3. Jumlah spora dihitung setiap 24 jam dengan menggunakan hemasitometer untuk menentukan waktu pertumbuhan maksimum dari *Trichoderma reesei* (lihat tabel D.1 dan gambar D.1).

Tabel D.1. Hubungan antara waktu pertumbuhan dan jumlah spora

Waktu Pertumbuhan (jam)	Jumlah Spora (spora / ml sampel)
24	$4,98 \times 10^5$
48	$1,34 \times 10^7$
72	$1,07 \times 10^7$
96	$6,78 \times 10^6$
120	$4,73 \times 10^6$



Gambar D.1. Kurva pertumbuhan dari *Trichoderma reesei* pada *Potato Dextrose Broth* (PDB)

LAMPIRAN E

DATA PENELITIAN

E.1. Perhitungan Jumlah Spora dengan Hemasitometer

Tabel E.1. Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer untuk *untreated* tongkol jagung

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Jumlah spora (spora / mL sampel)					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
24	15	14	33	19	19	11
48	110	104	146	127	120	106
72	96	94	126	122	89	104
96	58	62	81	65	67	79
120	40	35	47	46	49	46

Tabel E.2. Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer untuk *pretreatment* tongkol jagung secara fisika (*steam explosion*)

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Jumlah spora (spora / mL sampel)					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
24	21	19	30	35	24	28
48	112	116	165	137	132	107
72	99	101	138	133	100	104
96	67	73	90	82	67	75
120	51	62	58	64	49	59

Tabel E.3. Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer untuk *pretreatment* tongkol jagung secara kimia (larutan HCl 2 N)

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Jumlah spora (spora / mL sampel)					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
24	15	10	14	16	14	11
48	101	92	130	123	94	105
72	81	92	122	121	83	99
96	42	43	54	60	47	43
120	57	48	38	34	32	26

Tabel E.4. Perhitungan jumlah spora dengan hemasitometer yang dihasilkan oleh *A.niger* dengan volume nutrisi 15 ml dengan cara fisika

Massa substrat = 5

Waktu (jam)	Jumlah spora (spora/ml sampel) nutrien 15 ml	
	24	11
48	32	28
72	61	54
96	120	105
120	98	81

E.2. Absorbansi untuk Pengukuran Konsentrasi Glukosa Sebelum dan Setelah Aktivitas Enzim (Metode CMC-ase)

Tabel E.5. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk *untreated* tongkol jagung

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0.136	0.182	0.243	0.302	0.162	0.233
	0.121	0.176	0.216	0.314	0.150	0.228
48	0.245	0.417	0.314	0.500	0.275	0.432
	0.259	0.395	0.308	0.513	0.251	0.447
72	0.413	0.532	0.417	0.594	0.377	0.505
	0.431	0.521	0.433	0.585	0.391	0.485
96	0.393	0.491	0.520	0.637	0.480	0.577
	0.410	0.504	0.511	0.618	0.493	0.612
120	0.478	0.563	0.581	0.677	0.475	0.590
	0.491	0.592	0.600	0.709	0.487	0.563

Tabel E.6. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami *pretreatment* secara fisika

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0.090	0.152	0.353	0.412	0.171	0.250
	0.108	0.167	0.331	0.433	0.163	0.235
48	0.158	0.325	0.435	0.651	0.217	0.429
	0.166	0.314	0.448	0.670	0.196	0.400
72	0.217	0.358	0.553	0.715	0.423	0.594
	0.201	0.342	0.564	0.734	0.459	0.561
96	0.305	0.398	0.727	0.861	0.504	0.625
	0.299	0.411	0.732	0.893	0.488	0.603
120	0.378	0.465	0.723	0.836	0.587	0.696
	0.383	0.474	0.732	0.867	0.605	0.716

Tabel E.7. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami pretreatment secara kimia

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0,051	0,115	0,217	0,277	0,142	0,223
	0,092	0,122	0,199	0,293	0,153	0,213
48	0,137	0,279	0,278	0,442	0,197	0,384
	0,151	0,292	0,254	0,453	0,218	0,371
72	0,188	0,311	0,312	0,461	0,276	0,391
	0,223	0,303	0,338	0,475	0,292	0,380
96	0,268	0,354	0,393	0,500	0,338	0,425
	0,287	0,365	0,417	0,533	0,364	0,458
120	0,322	0,426	0,591	0,694	0,423	0,513
	0,349	0,418	0,574	0,667	0,451	0,527

Tabel E.8. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode CMC-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami pretreatment secara fisika menggunakan *A.niger*

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi	
	nutrien 15 ml	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0,291	0,352
	0,283	0,377
48	0,382	0,494
	0,401	0,513
72	0,497	0,622
	0,520	0,657
96	0,600	0,766
	0,614	0,790
120	0,723	0,851
	0,738	0,868

E.3. Absorbansi untuk Pengukuran Konsentrasi Glukosa Sebelum dan Setelah Aktivitas enzim (metode FP-ase)

Tabel E.9. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode FP-ase) untuk *untreated* tongkol jagung

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0,137	0,173	0,230	0,310	0,111	0,157
	0,145	0,200	0,218	0,288	0,121	0,186
48	0,146	0,269	0,295	0,477	0,176	0,305
	0,154	0,251	0,289	0,460	0,162	0,288
72	0,181	0,305	0,338	0,477	0,228	0,362
	0,198	0,278	0,346	0,494	0,243	0,334
96	0,223	0,312	0,439	0,561	0,360	0,459
	0,245	0,337	0,455	0,553	0,352	0,466
120	0,300	0,410	0,541	0,648	0,415	0,495
	0,315	0,381	0,527	0,616	0,432	0,532

Tabel E.10. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode FP-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami *pretreatment* secara fisika

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0,108	0,162	0,351	0,435	0,154	0,216
	0,138	0,186	0,339	0,407	0,142	0,211
48	0,148	0,305	0,415	0,581	0,200	0,359
	0,167	0,291	0,390	0,592	0,189	0,335
72	0,200	0,316	0,501	0,656	0,451	0,578
	0,194	0,322	0,485	0,642	0,435	0,556
96	0,285	0,369	0,643	0,784	0,496	0,612
	0,277	0,388	0,622	0,765	0,481	0,588
120	0,370	0,458	0,667	0,793	0,547	0,642
	0,386	0,471	0,680	0,778	0,536	0,653

Tabel E.11. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode FP-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami *pretreatment* secara kimia

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi					
	nutrien 10 mL		nutrien 15 mL		nutrien 20 mL	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0,100	0,133	0,189	0,281	0,107	0,144
	0,109	0,162	0,200	0,255	0,113	0,178
48	0,135	0,271	0,248	0,407	0,156	0,280
	0,146	0,224	0,237	0,411	0,175	0,295
72	0,178	0,280	0,304	0,425	0,220	0,314
	0,155	0,244	0,322	0,449	0,241	0,339
96	0,215	0,327	0,371	0,463	0,313	0,405
	0,230	0,289	0,359	0,487	0,302	0,386
120	0,292	0,356	0,508	0,597	0,394	0,468
	0,273	0,375	0,535	0,639	0,380	0,472

Tabel E.12. Pengukuran absorbansi larutan glukosa sebelum dan setelah aktivitas enzim (metode FP-ase) untuk tongkol jagung yang mengalami *pretreatment* secara fisika menggunakan *Aspergillus niger*

Massa substrat = 5 gram

Waktu (jam)	Absorbansi	
	nutrien 15 ml	
	sebelum aktivitas	sesudah aktivitas
24	0,210	0,300
	0,234	0,281
48	0,312	0,405
	0,327	0,394
72	0,422	0,542
	0,438	0,517
96	0,540	0,688
	0,556	0,703
120	0,637	0,760
	0,655	0,787

LAMPIRAN F

ANALISA DATA

F.1. Perhitungan Jumlah Spora

Contoh perhitungan dari tabel E.1. untuk fermentasi jam ke-24 dengan penambahan volume nutrisi 10 mL / 5 gram substrat.

Hemasitometer
15
14

$$\text{Jumlah spora rata-rata} = \frac{15 + 14}{2} = 14,5$$

$$\text{Jumlah spora} = \frac{\text{hemasitometer}}{80 \times 25 \times 10^{-5} \times 10^{-3}}$$

$$\text{Jumlah spora} = \frac{14,5}{80 \times 25 \times 10^{-5} \times 10^{-3}} = 725.000 \text{ spora}$$

Dengan cara yang sama untuk tabel E.1 sampai dengan E.3. dapat dihitung jumlah spora. seperti tercantum pada tabel F.1.

Tabel F.1. Hubungan antara waktu fermentasi dan jumlah spora untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat

Waktu fermentasi (jam)	Volume nutrisi (ml)	Untreatment (spora / mL sampel)	Fisika (spora / mL sampel)	Kimia (spora / mL sampel)
24	10	$0,725 \times 10^6$	$1,000 \times 10^6$	$0,625 \times 10^6$
48		$5,350 \times 10^6$	$5,700 \times 10^6$	$4,825 \times 10^6$
72		$4,750 \times 10^6$	$5,000 \times 10^6$	$4,325 \times 10^6$
96		$3,000 \times 10^6$	$3,500 \times 10^6$	$2,125 \times 10^6$
120		$1,875 \times 10^6$	$2,825 \times 10^6$	$2,625 \times 10^6$
24	15	$1,300 \times 10^6$	$1,625 \times 10^6$	$0,750 \times 10^6$
48		$6,825 \times 10^6$	$7,550 \times 10^6$	$6,325 \times 10^6$
72		$6,200 \times 10^6$	$6,775 \times 10^6$	$6,075 \times 10^6$
96		$3,650 \times 10^6$	$4,300 \times 10^6$	$2,850 \times 10^6$
120		$2,325 \times 10^6$	$3,050 \times 10^6$	$1,800 \times 10^6$
24	20	$0,750 \times 10^6$	$1,300 \times 10^6$	$0,625 \times 10^6$
48		$5,650 \times 10^6$	$5,975 \times 10^6$	$4,975 \times 10^6$
72		$4,825 \times 10^6$	$5,100 \times 10^6$	$4,550 \times 10^6$
96		$3,650 \times 10^6$	$3,550 \times 10^6$	$2,250 \times 10^6$
120		$2,375 \times 10^6$	$2,700 \times 10^6$	$1,450 \times 10^6$

F.2. Perhitungan Konsentrasi Glukosa

Contoh perhitungan dari tabel E.4. untuk fermentasi jam ke 24 dengan nutrisi 10 mL dalam 5 gram substrat

Absorbansi sebelum aktivitas enzim	Absorbansi setelah aktivitas enzim
0,136	0,182
0,121	0,176

$$\text{Absorbansi rata-rata sebelum aktivitas enzim} = \frac{0,136 + 0,121}{2} = 0,129$$

$$\text{Absorbansi rata-rata setelah aktivitas enzim} = \frac{0,182 + 0,176}{2} = 0,179$$

Dengan menggunakan kurva standar glukosa dari Lampiran C, konsentrasi glukosa dapat dihitung dengan persamaan (C.1):

$$\text{Absorbansi} = 1,1219 \times \text{konsentrasi glukosa (g/L)}$$

$$C \text{ glukosa sebelum aktivitas enzim} = \frac{0,129}{1,1219} = 0,1150 \text{ g/L}$$

$$C \text{ glukosa setelah aktivitas enzim} = \frac{0,179}{1,1219} = 0,1596 \text{ g/L}$$

$$\text{Konsentrasi glukosa setelah proses hidrolisa} = 0,1596 - 0,1150 = 0,0450$$

$$\text{Konsentrasi glukosa setelah pengenceran} = 10 \times 0,0450 = 0,450 \text{ mg/ml}$$

Dengan cara yang sama untuk tabel E.4 sampai dengan tabel E.9 maka dapat dibuat tabel F.2.dan tabel F.3

Tabel F.2. Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa setelah hidrolisa untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode CMC-ase

Waktu fermentasi (jam)	Volume nutrisi (ml)	Untreatment (mg/mL)	Fisika (mg/mL)	Kimia (mg/mL)
24	10	0,450	0,539	0,419
48		1,373	1,404	1,261
72		0,931	1,257	0,905
96		0,856	0,914	0,731
120		0,829	0,793	0,771
24	15	0,700	0,718	0,686
48		1,743	1,952	1,618
72		1,467	1,480	1,275
96		0,998	1,315	0,994
120		0,914	1,105	0,874
24	20	0,664	0,673	0,628
48		1,573	1,853	1,515
72		0,989	1,217	0,905
96		0,963	1,052	0,807
120		0,851	0,980	0,740

Tabel F.3. Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa setelah hidrolisa untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode FP-ase

Waktu fermentasi (jam)	Volume nutrisi (ml)	Untreatment (mg/mL)	Fisika (mg/mL)	Kimia (mg/mL)
24	10	0,406	0,455	0,383
48		0,980	1,250	0,954
72		0,909	1,087	0,851
96		0,807	0,869	0,762
120		0,784	0,771	0,740
24	15	0,669	0,677	0,655
48		1,573	1,640	1,484
72		1,279	1,390	1,105
96		0,980	1,270	0,980
120		0,874	0,998	0,860
24	20	0,494	0,583	0,455
48		1,136	1,359	1,087
72		1,003	1,105	0,856
96		0,949	0,994	0,784
120		0,802	0,945	0,740

F.3. Perhitungan Aktivitas Enzim

Contoh perhitungan untuk aktivitas enzim dari tabel F.2. untuk fermentasi jam ke-24 dengan penambahan nutrisi 10 ml dalam 5 gram substrat.

Waktu fermentasi (jam)	Konsentrasi glukosa (mg/mL)
24	0,450

$$\text{Aktivitas enzim (IU/mL)} = \frac{\text{konsentrasi glukosa} \times 2 \text{ mL} \times 0,0925}{1 \text{ mL}} \dots\dots\dots(\text{III-3})$$

$$\text{Aktivitas enzim (IU/mL)} = \frac{0,450 \times 2 \text{ mL} \times 0,0925}{1 \text{ mL}} = 0,0833 \text{ IU /mL}$$

Dengan cara yang sama untuk tabel F.2 dan tabel F.3, maka dapat dibuat tabel F.4 dan tabel F.5.

Tabel F.4. Hubungan antara waktu fermentasi dan aktivitas enzim untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode CMC-ase

Waktu fermentasi (jam)	Volume nutrisi (ml)	Untreatment (IU/mL)	Fisika (IU/mL)	Kimia (IU/mL)
24	10	0,0833	0,0997	0,0775
48		0,2540	0,2598	0,2333
72		0,1722	0,2325	0,1674
96		0,1584	0,1691	0,1352
120		0,1534	0,1467	0,1426
24	15	0,1295	0,1328	0,1269
48		0,3225	0,3611	0,2993
72		0,2714	0,2738	0,2359
96		0,1846	0,2433	0,1839
120		0,1691	0,2044	0,1617
24	20	0,1228	0,1245	0,1162
48		0,2910	0,3428	0,2803
72		0,1830	0,2251	0,1674
96		0,1782	0,1946	0,1493
120		0,1574	0,1813	0,1369

Tabel F.5. Hubungan antara waktu fermentasi dan aktivitas enzim untuk penambahan volume nutrisi 10 mL, 15 mL, dan 20 mL dalam 5 gram substrat dengan metode FP-ase

Waktu fermentasi (jam)	Volume nutrisi (ml)	Untreatment (IU/mL)	Fisika (IU/mL)	Kimia (IU/mL)
24	10	0,0751	0,0842	0,0709
48		0,1813	0,2313	0,1765
72		0,1682	0,2011	0,1574
96		0,1493	0,1608	0,1410
120		0,1450	0,1426	0,1369
24	15	0,1238	0,1252	0,1212
48		0,2910	0,3034	0,2745
72		0,2366	0,2572	0,2044
96		0,1813	0,2350	0,1813
120		0,1617	0,1846	0,1591
24	20	0,0914	0,1079	0,0842
48		0,2102	0,2514	0,2011
72		0,1856	0,2044	0,1584
96		0,1756	0,1839	0,1450
120		0,1484	0,1748	0,1369

F.4. Jumlah Spora, Konsentrasi Glukosa dan Aktivitas Enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* dengan Penambahan Volume Nutrien 15 ml

Dengan perhitungan yang sama untuk perhitungan jumlah spora, konsentrasi glukosa dan aktivitas enzim dari tabel E.4, tabel E.8 dan tabel E.12, maka dapat dibuat tabel F.6.

Tabel F.6. Hubungan antara waktu fermentasi dengan jumlah spora, konsentrasi glukosa dan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh *Aseprgillus niger*

Waktu fermentasi (Jam)	Jumlah spora	Konsentrasi glukosa		Aktivitas enzim	
		CMC-ase (IU/ml)	FP-ase (IU/ml)	CMC-ase (IU/ml)	FP-ase (IU/ml)
24	$0,45 \times 10^6$	0,691	0,611	0,1278	0,1130
48	$1,50 \times 10^6$	0,998	0,713	0,1846	0,1319
72	$2,93 \times 10^6$	1,168	0,887	0,2161	0,1641
96	$5,63 \times 10^6$	1,524	1,315	0,2819	0,2433
120	$4,48 \times 10^6$	1,150	1,136	0,2128	0,2102

