

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan November 2011 di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampah sayuran (wortel dan terong) dan sampah buah (kulit nanas, tomat dan kulit pisang), ragi tape merk NKL (Gambar 6. Lampiran 3.), urea (Gambar 7. Lampiran 3.), aquades, HCl 0,1 N, glukosa standar, Somogy Nelson A, Somogy Nelson B, larutan Arsenomolybdat dan gula putih.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan pada proses pembuatan etanol adalah erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, labu ukur, tabung reaksi, kertas saring, botol fermentasi, kain saring, timbangan analitik, blender, hot plate, pH meter, inkubator, seperangkat alat destilasi, spektrofotometer dan piknometer.

3.3 Variabel penelitian

- a. Variabel bebas : kadar urea dan lama fermentasi.
- b. Variabel terikat : kadar bioetanol.
- c. Variabel terkendali : sampah organik, kadar ragi tape, suhu dan pH.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor dengan 16 kombinasi dan masing-masing perlakuan menggunakan 3 kali ulangan. Adapun faktor perlakuannya adalah sebagai berikut:

Faktor 1= Lama Fermentasi (W)

W_2 = lama fermentasi 48 jam

W_4 = lama fermentasi 96 jam

W_6 = lama fermentasi 144 jam

W_8 = lama fermentasi 192 jam

Faktor 2= Kadar Urea (K)

K_0 = kadar urea 0 gram/l

K_2 = kadar urea 2 gram/l

K_4 = kadar urea 4 gram/l

K_6 = kadar urea 6gram/l

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Lama Fermentasi dan Variasi Kadar Urea terhadap Kadar Bioetanol dari Sampah Organik

$\begin{matrix} K \\ W \end{matrix}$	K_0	K_2	K_4	K_6
W_2	K_0W_2	K_2W_2	K_4W_2	K_6W_2
W_4	K_0W_4	K_2W_4	K_4W_4	K_6W_4
W_6	K_0W_6	K_2W_6	K_4W_6	K_6W_6
W_8	K_0W_8	K_2W_8	K_4W_8	K_6W_8

3.5 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Preparasi sampel.
2. Aktivasi ragi.
3. Proses fermentasi dengan penambahan urea (0, 2, 4 dan 6 g/l) dan lama fermentasi (48, 96, 144 dan 192 jam).
4. Pengukuran pH.
5. Pengukuran kadar gula reduksi.
6. Proses destilasi.
7. Pengukuran kadar bioetanol dengan piknometer.

3.6 Cara Kerja

3.6.1 Preparasi Sampel (Arasyid dan Wahyono, 2010)

1. Sampah organik (wortel, terong, kulit nanas, kulit pisang dan tomat) ditimbang dengan perbandingan sama sehingga diperoleh masa total sebanyak 2400 gram kemudian dicuci dengan air (Gambar 1. Lampiran 3.).

2. Sampah organik dipotong kecil-kecil dan dimasukkan autoklav pada suhu 121°C (Gambar 2. Lampiran 3.).
3. Dihaluskan dengan blender dan ditambahkan aquades sebanyak 800 ml.

3.6.2 Aktivasi Ragi (Kusnadi dan Yusuf, 2009)

1. Ragi tape ditimbang sebanyak 3 gram (3 % b/v).
2. Dimasukkan 1 gram gula putih ke dalam 10 ml air hangat ($\pm 40^{\circ}\text{C}$).
3. Ditambahkan ragi sebanyak 3 gram ke dalam larutan gula yang sudah dingin.
4. Larutan dimasukkan ke dalam botol fermentasi dan ditutup plastik.
5. Ragi dibiarkan selama 24 jam, setelah itu ragi bisa dipakai untuk fermentasi sampah organik (Gambar 8. Lampiran 3.).

3.6.3 Proses Fermentasi dengan Penambahan Urea (0, 2, 4 dan 6 g/l) dan Lama Fermentasi (48, 96, 144 dan 192 jam) (Reddy dkk, 2010; Prasetyo dan Wahyono, 2010)

1. Bubur sampah dimasukkan ke dalam 16 botol fermentasi masing-masing 130 gram dengan 3 kali ulangan.
2. Ditambahkan urea dengan kadar (0, 2, 4 dan 6 g/l).
3. pH diatur pada 4,5-5 dengan penambahan HCl 0,1N.
4. Ragi tape yang telah diaktivasi dimasukkan ke dalam botol fermentasi selanjutnya ditutup dengan plastik (Gambar 9. Lampiran 3.).
5. Masing-masing botol fermentasi disimpan dalam inkubator pada suhu 27°C (48, 96, 144 dan 192 jam).

3.6.4 Pengukuran pH

Pengukuran pH pada bubur sampah hasil fermentasi menggunakan pH meter pada setiap kali pengamatan (jam ke-48, 96, 144 dan 192)

3.6.5 Pengukuran Kadar Gula Reduksi (Somogy-Nelson) (Sudarmaji, 1997)

3.6.5.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

1. Dibuat larutan glukosa standar (10 mg glukosa anhidrat/100ml).
2. Larutan glukosa diencerkan sebanyak 6 kali sehingga diperoleh konsentrasi; 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/100ml.
3. Disiapkan 7 tabung reaksi yang bersih, masing-masing diisi dengan 1 ml larutan glukosa standar. Satu tabung diisi 1 ml aquades sebagai blanko.
4. Ditambahkan ke dalam masing-masing tabung 1 ml reagensia Nelson.
5. Masing-masing tabung dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit selanjutnya didinginkan.
6. Ditambahkan 1 ml reagensia Arsenomolybdat dan kocok sampai semua endapan Cu_2O yang ada larut kembali.
7. Ditambahkan 7 ml aquades dan kocok sampai homogen.
8. Larutan dimasukkan ke dalam cuvet kemudian diukur dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

3.6.5.2 Penentuan Kadar Gula Reduksi

1. Ditimbang 1 gram bubur sampah hasil fermentasi dan dilakukan pengenceran.
2. Dimasukkan sampel hasil pengenceran sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi.
3. Ditambahkan 1ml reagensia Nelson dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit selanjutnya didinginkan.

4. Ditambahkan 1 ml reagensia Arsenomolybdat dan dikocok sampai semua endapan Cu_2O yang ada larut kembali.
5. Ditambahkan 7 ml aquades dan dikocok sampai homogen.
6. Larutan dimasukkan ke dalam cuvet kemudian diukur dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
7. Kadar gula reduksi sampel dapat ditentukan berdasarkan OD dari larutan sampel dan dihubungkan dengan kurva standar glukosa.

3.6.6 Poses Destilasi (Jumari *dkk*, 2009)

1. Diambil sampel (hasil fermentasi), disaring kemudian sari smpah (Gambar 10. Lampiran 3.) dimasukkan ke dalam alat destilasi alkohol.
2. Proses destilasi dilakukan pada suhu 80 °C , karena titik didih alkohol 78 °C dan titik didih air 100 °C.
3. Diembunkan uap hasil destilasi tersebut dan menampungnya ke dalam tabung penampungan (erlenmeyer).
4. Bila uap sudah tidak menetes lagi, destilat (Gambar 11. Lampiran 3.) diambil dan disimpan dalam botol.
5. Selanjutnya destilat dianalisa kadar bioetanolnya.

3.6.7 Penentuan Kadar Bioetanol dengan Piknometer (AOAC, 1990)

1. Piknometer kering ditimbang dengan menggunakan timbangan digital.
2. Aquades dimasukkan ke dalam piknometer kosong dan ditimbang.
3. Piknometer dikeringkan dengan menggunakan hair dryer.

4. Destilat dimasukkan kedalam piknometer kosong dan ditimbang.
5. Dibandingkan antara berat aquades dengan berat destilat, selanjutnya mencocokkan dengan tabel hubungan antara rapat jenis dengan kadar etanol.

$$\text{Rapat Jenis} = \frac{A-B}{B-C}$$

Keterangan:

A= berat piknometer kosong + aquades

B= berat piknometer kosong

C= berat piknometer kosong + destilat

3.7 Analisis Data

Data hasil percobaan dianalisis dengan menggunakan analisis variansi (Anava) dua arah (Two Way). Jika terdapat perbedaan antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan DMRT $\alpha = 5\%$.