

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN PENAMBAHAN UREA  
TERHADAP KADAR BIOETANOL SUBSTRAT LIMBAH NIRA  
SIWALAN**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NUR KHOFIFATUL UTAMI  
NIM. 18620058**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN PENAMBAHAN UREA  
TERHADAP KADAR BIOETANOL SUBSTRAT LIMBAH NIRA  
SIWALAN**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NUR KHOFIFATUL UTAMI  
NIM. 18620058**

**Diajukan Kepada :  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN PENAMBAHAN UREA  
TERHADAP KADAR BIOETANOL SUBSTRAT LIMBAH NIRA  
SIWALAN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**NUR KHOFIFATUL UTAMI**  
NIM. 18620058

Telah diperiksa dan disetujui  
Tanggal: 7 Juni 2023

Dosen Pembimbing I



**Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P.**  
NIP. 19620901 199803 2 001

Dosen Pembimbing II



**Dr. M. Imamuddin, M. A.**  
NIP. 19740602 200901 1 010



Mengetahui,  
Ketua Program Studi

**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.**  
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN PENAMBAHAN UREA  
TERHADAP KADAR BIOETANOL SUBSTRAT LIMBAH NIRA  
SIWALAN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**NUR KHOFIFATUL UTAMI**  
NIM. 18620058

telah dipertahankan

didepan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal : 27 Juni 2023

Ketua Penguji : Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si  
NIP : 19650509 199903 2 002 (.....)

Anggota Penguji I : Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc  
NIP : 19920507 201903 2 026 (.....)

Anggota Penguji II : Ir. Liliek Harianie, A.R., M.P  
NIP : 19620901 199803 2 001 (.....)

Anggota Penguji III : Dr. M. Imamudin, Lc, M.A  
NIP : 19740602 200901 1 010 (.....)

Mengesahkan,  
Ketua Program Studi



**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.**  
NIP. 19741018 200312 2 002

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*AlhamdulillahRabbil'alamiin.* Segala puji bagi Allah SWT atas karunia dan nikmat-Nya yang telah diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Dengan penuh rasa syukur penulis persembahkan skripsi ini kepada :

1. Kedua orang tua penulis, Ibu Kartumi dan Bapak Suwondo yang telah merawat, mendidik, serta senantiasa mendukung dan mendoakan penulis dalam penyusunan naskah skripsi.
2. Mbak Siti Sutarsih dan Mas Marmo yang telah berbesar hati memberikan sebagian dananya untuk keperluan membayar biaya perkuliahan penulis.
3. Segenap keluarga yang telah mendoakan dan memberi dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Kiptiyah, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan arahan serta bimbingan dari awal studi.
5. Ir. Hj. Liliek Harianie A. R., M.P dan Dr. M. Imamudin, M.A selaku dosen pembimbing skripsi yang telah berbesar hari meluangkan waktu, tenaga, dan ilmunya dalam membimbing penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. Teman-teman Biologi kelas B yang telah memberikan bantuan dan motivasinya kepada penulis.
7. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Nama : Nur Khofifatul Utami  
NIM : 18620058  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Urea terhadap Kadar Bioetanol Substrat Limbah Nira Siwalan

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 8 Juni 2023

Yang membuat pernyataan



Nur Khofifatul Utami

NIM.18620058

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Sripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis an harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

# **PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN PENAMBAHAN UREA TERHADAP KADAR BIOETANOL SUBSTRAT LIMBAH NIRA SIWALAN**

Nur Khofifatul Utami, Liliek Harianie. A.R, M. Imamuddin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana  
Malik Ibrahim Malang

## **ABSTRAK**

Bioetanol merupakan salah satu sumber energi alternatif yang dapat menggantikan sumber energi fosil yang bersifat ramah lingkungan dan dapat diperbarui. Bahan yang dapat digunakan untuk membuat bioetanol adalah bahan yang mengandung gula sederhana, bahan berpati, atau bahan berserat yang diolah melalui proses fermentasi. Salah satu bahan yang dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan bioetanol yaitu nira siwalan yang telah rusak. Proses fermentasi pada pembuatan bioetanol ini menggunakan bantuan mikroorganisme yakni *Saccharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari ragi roti (*yeast*). Urea ditambahkan pada media fermentasi sebagai sumber nitrogen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol dan nilai pH substrat limbah nira siwalan. Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor dan tiga kali ulangan. Faktor lama fermentasi yakni 48 jam, 72 jam dan 96 jam sedangkan faktor penambahan urea urea yang digunakan pada penelitian ini adalah 0 gram, 0,2 gram, 0,4 gram, dan 0,6 gram. Data terkait variabel terikat dianalisis menggunakan SPSS lalu dilakukan uji ANOVA dan kemudian dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* 5%. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh nyata dari kombinasi perlakuan lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol. Kadar Bioetanol tertinggi diperoleh pada lama fermentasi 48 jam dan penambahan urea 0,6 gram (13%). Kombinasi perlakuan lama fermentasi dan penambahan urea berpengaruh pada nilai pH substrat fermentasi yang menyebabkan nilai pH menurun setiap hari selama fermentasi berlangsung.

*Kata kunci : kadar bioetanol, konsentrasi urea, lama fermentasi, nira siwalan, pH.*



# **EFFECT OF FERMENTATION TIME AND UREA ADDITION ON LEVELS OF BIOETHANOL IN WASTE SUBSTRATE SIWALAN SAP**

Nur Khofifatul Utami, Liliek Harianie. A.R, M. Imamudin

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

## **ABSTRACT**

Bioethanol is an alternative energy source that can replace fossil energy sources which is environmentally friendly and renewable. Materials that can be used to make bioethanol are materials containing simple sugars, starchy materials, or fibrous materials which are processed through a fermentation process. One of the materials that can be used to produce bioethanol is palm sap that has been damaged. The fermentation process in the manufacture of bioethanol uses the help of microorganisms namely *Saccharomyces cerevisiae* which is obtained from yeast (*yeast*). Urea is added to the fermentation medium as a nitrogen source. The purpose of this study was to determine the effect of fermentation time and the addition of urea on bioethanol content and the pH value of siwalan sap waste substrate. This research includes the type of experimental research. This study used a completely randomized design with two factors and three replications. The fermentation time factor was 48 hours, 72 hours and 96 hours while the factor for adding urea to urea used in this study was 0 gram, 0.2 gram, 0.4 gram and 0.6 gram. Data related to the dependent variable were analyzed using SPSS and then carried out the ANOVA test and then continued with the 5% Duncan Multiple Range Test (DMRT). The results showed that there was a significant effect of the combination of fermentation duration and addition of urea on bioethanol content. The highest bioethanol content was obtained at 48 hours of fermentation and the addition of 0.6 gram (13%) urea. The combination of the long fermentation treatment and the addition of urea had an effect on the pH value of the fermentation substrate which caused the pH value to decrease every day during the fermentation.

*Keywords: bioethanol content, urea concentration, fermentation time, siwalan sap, pH.*

## تأثير مدة التخمير وإضافة البوريا على محتوى الإيثانول الحيوي لركيزة نفايات عصارة نخيل الدليب

نور خفيفة الأوتامي، ليليك هارياي. أ.ر، محمد إمام الدين

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

### الملخص

يعد الإيثانول الحيوي أحد مصادر الطاقة البديلة التي يمكن أن تحل محل مصادر الطاقة الأحفورية الصديقة للبيئة والمتجددة. المكونات التي يمكن استخدامها لصنع الإيثانول الحيوي هي المواد التي تحتوي على السكريات البسيطة أو المكونات النشوية أو المواد اللبينية التي تتم معالجتها من خلال عملية التخمير. أحد المكونات التي يمكن استخدامها لإنتاج الإيثانول الحيوي هو عصارة نخيل الدليب التي تضررت. تستخدم عملية التخمير في صنع الإيثانول الحيوي مساعدة الكائنات الحية الدقيقة خميرة البيرة (*Saccharomyces cerevisiae*) التي تم الحصول عليها من خميرة الخباز (*yeast*). يضاف البوريا إلى وسط التخمير كمصدر للنيتروجين. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد تأثير وقت التخمير وإضافة البوريا على محتوى الإيثانول الحيوي وقيمة الأس الهيدروجيني لركيزة نفايات نخيل الدليب. يشمل هذا البحث نوع البحث التجريبي. استخدمت هذه الدراسة تصميمًا عشوائيًا بالكامل مع عاملين وثلاثة مكررات. كان عامل زمن التخمير وهي ٤٨ ساعة و ٧٢ ساعة و ٩٦ ساعة بينما كان عامل إضافة البوريا المستخدم في هذه الدراسة ٠ جرام و ٠,٢ جرام و ٠,٤ جرام و ٠,٦ جرام. تم تحليل البيانات المتعلقة بالمتغيرات المرتبطة باستخدام SPSS ثم تم إجراء اختبار ANOVA ثم استمر مع اختبار دنكان متعدد المدى (DMRT) بنسبة ٥%. أظهرت النتائج تأثيرًا حقيقياً لمزيج من معالجة التخمير الطويلة وإضافة البوريا على محتوى الإيثانول الحيوي. تم الحصول على أعلى محتوى الإيثانول الحيوي في ٤٨ ساعة من التفرد وإضافة ٠,٦ جرام (١٣,١%) من البوريا. إن الجمع بين معالجة التخمير الطويلة وإضافة البوريا له تأثير على قيمة الأس الهيدروجيني لركيزة التخمير مما يؤدي إلى انخفاض قيمة الأس الهيدروجيني كل يوم أثناء التخمير.

الكلمات الرئيسية: محتوى الإيثانول الحيوي، تركيز البوريا، وقت التخمير، عصارة نخيل الدليب، درجة الحموضة.

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim*, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam karena atas rahmat dan hidayah-Nya penulis mampu menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Urea terhadap Kadar Bioetanol Substrat Limbah Nira Siwalan”. Tidak lupa solawat serta salam selalu dilimpahkan kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW. Yang telah mengantarkan manusia ke jalan kebenaran. Selanjutnya, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada batas kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P, M.Si dan Dr. M. Imamudin, Lc., M.A. selaku pembimbing I dan II yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Dr. Kiptiyah, M.Si selaku Dosen wali yang telah membimbing dan memberi masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
6. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc selaku dosen penguji yang telah mengarahkan dan memberikan masukan-masukan terkait penulisan naskah skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
7. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Kedua orang tua penulis serta segenap keluarga tercinta yang telah memberikan doa, dukungan serta motivasi kepada penulis.
9. Teman-teman seperjuangan Biologi yang telah memberikan bantuan dan dukungan.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis juga menyadari bahwa dalam skripsi yang disusun oleh penulis masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Malang, 05 Juni 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vi
MOTTO .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
ABSTRAK .....	ix
ABSTRACT.....	x
الملخص.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv

### BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	8
1.3 Tujuan.....	9
1.4 Hipotesis.....	9
1.5 Manfaat Penelitian.....	9
1.6 Batasan Masalah.....	9

### BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Siwalan.....	11
2.1.1 Morfologi Tanaman Siwalan .....	11
2.2 Nira Siwalan.....	14
2.3 Bioetanol .....	17
2.4 Fermentasi Alkohol.....	19
2.5 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	23
2.6 Distilasi .....	26
2.7 Analisis Kadar Etanol .....	28

### BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian.....	30
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.3 Alat dan Bahan.....	32
3.3.1 Alat Penelitian.....	32
3.3.2 Bahan Penelitian.....	32
3.4 Prosedur Penelitian .....	32
3.4.1 Pengambilan Sampel dan proses Pembusukan Nira .....	32
3.4.2 Sterilisasi .....	32
3.4.3 Pembuatan Bioetanol .....	33
3.4.4 Uji pH Substrat Fermentasi.....	33
3.4.5 Distilasi Hasil Fermentasi .....	33
3.4.6 Analisis Kadar Bioetanol .....	34

3.5 Analisis Data.....	34
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Pengaruh Lama Fermetasi dan penambahan Urea terhadap Kadar Bioetanol Limbah Nira Siwalan.....	36
4.2 Pengaruh Lama Fermetasi dan penambahan Urea terhadap Nilai pH Substrat Fermentasi Bioetanol Limbah Nira Siwalan.....	40
4.3 Pemanfaatan Limbah Nira Siwalan sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol dalam Perspektid Al-Qur'an.....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>46</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.2 Kadar gula nira dari berbagai tanaman palmae.....	15
2.3 Komposisi nutrisi dalam nira siwalan.....	16
3.1 Kombinasi perlakuan lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol substrat limbah nira siwalan.....	31
4.2 Hasil uji DMRT pengaruh lama fermentasi dan penambahan urea fermentasi bioetanol nira siwalan.....	37
4.2 Rata-rata nilai pH terhadap lama fermentasi dan penambahan urea fermentasi bioetanol nira siwalan.....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Siwalan .....	11
2.2 Jalur Bioproses Etanol pada Jalur Glikolisis.....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Data Hasil Kadar Etanol .....	53
2. Data Hasil Derajat Keasaman (pH) .....	54
3. Hasil analisis statistik <i>Two way ANOVA</i> dan uji lanjut DMRT pengaruh kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar etanol.....	55
4. Perhitungan kadar bioetanol berdasarkan gravitasi jenis sampel .....	58
5. Dokumentasi penelitian .....	59



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Energi menjadi suatu kebutuhan dasar bagi manusia karena seiring dengan meningkatnya pertumbuhan penduduk dan ekonomi menyebabkan kebutuhan energi juga semakin meningkat. Peningkatan kebutuhan terhadap energi di dunia hanya sebesar 2% sedangkan di Indonesia meningkat sebesar 8% setiap tahunnya (Gozan, 2014). Rerata peningkatan kebutuhan akan energi di Indonesia tersebut ialah sekitar 36 juta *barrel oil equivalent* (BOE) sejak tahun 2000 hingga 2014. Secara tidak langsung, hal tersebut menyebabkan munculnya masalah berupa persediaan energi tidak terbarukan (minyak dan gas bumi serta batu bara) menjadi semakin terbatas. Sesuai dengan Renstra (Rencana Strategis) Kementerian ESDM 2015-2019 yang mengungkapkan bahwa ketersediaan minyak bumi di Indonesia hanya cukup hingga 13 tahun yang akan datang dengan perkiraan sebesar 3,6 miliar barel (Sa'adah, 2017).

Ekplorasi mengenai sumber daya energi lebih difokuskan pada energi yang tak terbarukan sehingga energi terbarukan yang jumlahnya cenderung lebih banyak belum dimanfaatkan secara maksimal. Menurut Elinur (2010) dalam Rahmawati (2021) menerangkan bahwa jumlah energi yang tak dapat diperbarui, terutama minyak bumi setiap tahun mengalami penurunan. Sementara itu, minyak bumi merupakan energi yang memiliki peran besar bagi Indonesia. Peran tersebut dapat dilihat dari beberapa kegiatan masyarakat Indonesia yang banyak ditopang oleh adanya minyak bumi, seperti kegiatan ekonomi, industri, hingga perusahaan. Dengan demikian, perlu adanya sumber energi atau bahan bakar lain yang berfungsi sebagai sumber energi alternatif dengan sifat yang mirip seperti minyak

bumi yang didapatkan melalui fosil sehingga beberapa waktu mendatang sumber energi tersebut dapat diperbarui.

Salah satu pengganti bahan bakar minyak bumi sebagai sumber energi alternatif ialah Bahan Bakar Nabati (BBN) atau juga dikenal sebagai *biofuel*. *Biofuel* ini dikelompokkan menjadi dua jenis, yakni bioetanol dan biodiesel. Bioetanol merupakan hasil proses fermentasi gula menggunakan bantuan mikroorganisme yang berwujud cair. Kandungan etanol di dalamnya dalam kadar tertentu dapat digabung dengan bahan bakar minyak bumi. Biodiesel dapat diartikan sebagai suatu bahan bakar yang diperoleh melalui proses esterifikasi dari minyak bumi yang umumnya terdiri dari ester metil (Lubad,2010).

Etanol yang dijadikan sebagai bahan bakar alternatif memiliki beberapa kelebihan, salah satunya ialah bersifat *biodegradable*. Kandungan oksigen dalam etanol tergolong tinggi, yakni sebesar 35% dan emisi gas karbon monoksida yang dihasilkan lebih rendah sebesar 19-25% daripada bahan bakar minyak. Etanol yang dihasilkan dari energi terbarukan lebih stabil sehingga tidak andil dalam meningkatkan kadar karbon dioksida di atmosfer. Selain itu, proses pembakaran dari energi terbarukan berupa bioetanol ini tergolong stabil yang dapat diketahui dari nilai oktan sebesar 129, dimana angka ini tergolong tinggi. Emisi karbon monoksida dapat dikurangi hingga menjadi 1,3% melalui pembakaran dengan daya yang lebih baik (Edwars dan Riadi, 2015).

Tidak hanya dimanfaatkan sebagai bahan bakar alternatif pengganti bahan bakar minyak, etanol yang berasal dari bioetanol tersebut juga dapat difungsikan dalam berbagai kebutuhan lainnya dalam bentuk produk. Menurut Hanum dkk (2013), kadar etanol sebanyak 95-96% dapat disebut sebagai “etanol hidrat”,

dimana etanol ini dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan kegunaannya, antara lain etanol yang dijadikan minuman, pelarut, serta desinfektan berupa *technical/raw spit grade*; etanol sebagai bahan baku dalam industri pelarut yakni *industrial grade*; dan etanol yang digunakan dalam pembuatan minuman dengan kualitas tinggi berupa *potable grade*. Selain itu, Chairul dan Yenti (2013) juga menambahkan bahwa penggunaan etanol juga telah banyak diaplikasikan pada aspek kesehatan sebagai antiseptik.

Bahan baku bioetanol dapat diperoleh dari berbagai tanaman dan limbah (Hanum, 2018). Ada beberapa sumber yang dapat dijadikan sebagai bahan baku dalam pembentukan bioetanol, antara lain nira bergula (nira siwalan, nira tebu, nira sorgum manis, nira nipah, nira kelapa, dan nira aren), bahan berpati (singkong, ganyong, sagu, ubi jalar, dan garut), serta lignoselulosa (jerami, kayu, bagas dan batang pisang) (Komaryati, 2014). Nira siwalan merupakan suatu cairan yang keluar dari pembuluh tapis tanaman siwalan dengan dilakukan penyadapan pada bagian tandan bunga, baik bunga jantan maupun bunga betina, dimana nira siwalan ini mengandung sumber karbohidrat berupa glukosa dan sukrosa, air, protein, lemak serta sedikit serat (Heryani, 2016).

Bahan baku pembuatan bioetanol, dalam hal ini nira siwalan yang difermentasi dapat diperoleh dari tumbuhan siwalan menyiratkan bahwa adanya tumbuhan di bumi ini dapat dimanfaatkan oleh manusia, dimana hal tersebut sesuai dengan firman Allah SWT di dalam Al-Qur'an surah Yaasiin [36] :80 :

الَّذِي جَعَلَ لَكُم مِّنَ الشَّجَرِ الْأَخْضَرِ نَارًا فَإِذَا أَنْتُمْ مِّنْهُ تُوقِدُونَ ۝

Artinya :

*“yaitu Tuhan yang menjadikan untukmu api dari kayu yang hijau, maka tiba-tiba kamu nyalakan (api) dari kayu itu”.*

Ayat diatas menjelaskan bahwa Tuhan yang menciptakan api dari pohon hijau setelah mengalami pengeringan. Maksud dari pohon yang hijau itu adalah adanya proses asimilasi sinar (penyerapan sinar matahari) yakni kekuatan surya yang dapat berpindah ke dalam tumbuh-tumbuhan kemudian setelah pohon tersebut diproses dapat menghasilkan bahan bakar (Shihab, 2002). Berdasarkan penjelasan tersebut bahwa adanya potensi bahan baku bioetanol berasal dari suatu tanaman salah satunya adalah tanaman siwalan yang berupa nira siwalan.

Nira siwalan atau biasa disebut *legen* ini dianggap sebagai minuman yang menyegarkan dan memiliki rasa yang manis serta bermanfaat dalam penyembuhan berbagai jenis penyakit bagi masyarakat sekitar. Heryani (2016) menjelaskan bahwa penyebab dari adanya rasa manis pada nira ialah terdapat kandungan gula sukrosa di dalamnya. Selain itu, nira siwalan juga mengandung nutrisi lain, menurut Ismawati (2019) nira siwalan mengandung nutrisi yang tergolong lengkap berupa karbohidrat, protein, air, dan mineral. Nilai pH di dalam nira segar mencapai 5-6 dengan kandungan gula sebesar >12%. Kompleksnya kandungan nutrisi di dalam nira siwalan menyebabkan nira sebagai media yang baik dalam menumbuhkan mikroorganisme sehingga nira siwalan tidak dapat bertahan lama. Kesegarannya hanya bisa bertahan sekitar 24-36 jam sejak disadap. Jika melebihi waktu tersebut maka nira siwalan dapat terfermentasi sehingga rasanya menjadi asam (Mochklas, 2021). Rasa asam tersebut muncul sebagai akibat dari adanya mikroba di dalam nira (Mardiyah, 2017). Pada awalnya, sukrosa pada nira diubah oleh mikroba menjadi alkohol dan selanjutnya menjadi asam (Imron dkk, 2015).

Presscott (1949) dalam Maisaroh (2020) menjelaskan bahwa khamir yang dapat tumbuh pada nira siwalan terdiri dari dua jenis, yakni *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces carlbergensis*. Keduanya dapat tumbuh dan berkembang dengan baik pada suhu 21-25°C dan pH 4,4 – 4,6. *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan dalam pembuatan bioetanol dapat diperoleh dari ragi roti. Menurut Pelczar dan Chan (2013) kandungan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam ragi roti telah mengalami seleksi dan mutasi atau hibridasi sehingga mampu tumbuh dengan cepat serta melakukan fermentasi gula di dalam adonan dengan baik. Salsabila dkk. (2013) mengungkapkan bahwa dalam produksi etanol, tidak perlu menggunakan inokulum secara khusus karena ragi berupa *Saccharomyces cerevisiae* dapat digunakan secara langsung sebagai inokulum.

Nira yang dianggap basi kemudian dibuang dan masyarakat tidak memanfaatkannya sebagai sesuatu yang berguna. Berawal dari kekhawatiran akan adanya limbah terbuang yang dapat berpotensi untuk mencemari lingkungan, dilakukan penelitian nira siwalan yang telah rusak (limbah nira siwalan) sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Sehingga masyarakat dapat memanfaatkan potensi ini secara maksimal. Penkonversian limbah nira siwalan menjadi bioetanol melalui peran *Saccharomyces cerevisiae*, dimana etanol dapat dihasilkan melalui proses distilasi. Proses fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* memerlukan nutrisi agar dapat tumbuh dengan optimal. Hal ini sesuai dengan Subrimobdi (2016) bahwa nutrien diperlukan sebagai tambahan makanan bagi pertumbuhan *yeast*. Ditambahkan oleh Kusuma (2010) yang menyatakan bahwa

faktor yang dapat menjadi indeks keberhasilan fermentasi etanol ialah kadar gula dan nutrisi lain dalam substrat, suhu, pH, jenis khamir, waktu dan oksigen.

Nutrien pada pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* berfungsi sebagai penyedia energi, nitrogen, mineral dan vitamin. Selain glukosa atau karbohidrat lain dalam nira siwalan sebagai sumber karbon, juga terdapat nutrisi lain yang berperan dalam pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* yakni sumber nitrogen (unsur N). Sumber nitrogen tersebut dapat diperoleh melalui penambahan beberapa zat, seperti urea, amonium sulfat, pepton ataupun zat nitrogen lainnya yang berguna dalam membentuk asam nukleat dan asam-asam amino. Sumber nutrisi dengan kadar nitrogen yang tergolong tinggi ialah urea dengan kadar nitrogen sebesar 46% (Rahmah, 2015). Ditambahkan oleh Fitria (2021) bahwa urea yang ditambahkan sebagai sumber nitrogen dalam proses fermentasi berfungsi dalam peningkatan produksi bioetanol.

Kandungan nitrogen dalam urea diunggulkan daripada sumber nitrogen yang lain, karena menurut Lingga (2004), kandungan nitrogen di dalam urea lebih tinggi (46%) daripada sumber nitrogen dalam zat lain, salah satunya ZA dengan kandungan nitrogen hanya sebesar 21%. Proses pertumbuhan dan perkembangan *Saccharomyces cerevisiae* memerlukan penambahan unsur nitrogen. Penambahan urea merupakan salah satu cara untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* selama proses fermentasi (Susmanto, 2020). Urea berfungsi sebagai substrat bagi mikroorganisme karena selama proses fermentasi kandungan gizi dalam urea dimanfaatkan oleh yeast untuk sintesis protein. Sintesis protein mengakibatkan yeast berkembang biak (Qomariyah, 2021). Selain

itu, kadar bioetanol yang dihasilkan juga dapat dipengaruhi oleh lamanya fermentasi.

Kunaepah (2008) menyatakan bahwa jika waktu fermentasi yang diberlakukan semakin lama maka dapat terjadi penurunan jumlah mikroba hingga menuju fase kematian karena kadar alkohol yang dihasilkan meningkat dengan nutrisi di dalam substrat yang semakin sedikit. Dengan demikian, diperlukan adanya kajian yang lebih lanjut dalam penelitian ini mengenai pentingnya sumber nitrogen sebagai sumber nutrisi *Saccharomyces cerevisiae* dan memberikan variasi pada lama fermentasi.

Penentuan lama fermentasi dan penambahan urea dalam penelitian ini berdasarkan penelitian terdahulu. Menurut Kurniati (2021) menjelaskan bahwa waktu optimum fermentasi bioetanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dalam rentang 48 jam hingga 96 jam. Hasil penelitian Umam (2018) menunjukkan bahwa kadar etanol tertinggi (34,9%) didapati pada lama fermentasi 48 jam. Hasil penelitian Simanjuntak, *et al*, 2015, didapatkan hasil bahwa konsentrasi bioetanol tertinggi 8%(v/v) pada saat konsentrasi inoculum 17,5% dengan waktu fermentasi 72 jam. Hasil penelitian Pangestu (2022) menunjukkan bahwa variasi urea 0,2% menghasilkan kadar bioetanol tertinggi yakni sebesar 7,80%. Hasil penelitian Akhir (2015) menunjukkan perolehan kadar etanol tertinggi sebesar 7% pada perlakuan konsentrasi nutrisi 0,5 g/l dan waktu fermentasi optimum pada 72 jam.

Kadar etanol yang dihasilkan berhubungan erat dengan nilai pH media fermentasi. Hal ini sesuai dengan Utama (2013) yang menjelaskan bahwa kadar etanol yang terkandung di dalam substrat setelah terjadinya fermentasi secara tidak langsung akan mempengaruhi nilai pH substrat. Semakin tinggi kadar etanol

maka pH substrat akan semakin asam dan semakin rendah kadar etanol maka pH substrat semakin mendekati pH asli substrat. Menurut Afrianti (2013) beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain mikroorganisme, substrat (medium), pH (keasaman), suhu, dan oksigen. Namun dalam hal ini fermentasi bioetanol tidak membutuhkan oksigen karena fermentasi dilakukan secara anaerob.

Hasil penelitian Utama (2013) menunjukkan bahwa hasil akhir nilai pH adalah 3,78 yang menghasilkan kadar alkohol 1,90%. Hasil penelitian Pranata (2017) diketahui kadar etanol tertinggi sebesar 22,5% dengan nilai pH substrat fermentasi 4,40. Penelitian yang telah dipaparkan tersebut belum ada yang menggunakan variasi lama fermentasi dan penambahan urea pada pembuatan bioetanol dengan substrat limbah nira siwalan untuk mengetahui kadar bioetanol serta untuk mengetahui variasi lama fermentasi dan konsentrasi urea yang optimal agar bioetanol yang dihasilkan menjadi maksimal sehingga penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai data ilmiah yang valid tentang pemanfaatan limbah nira siwalan sebagai alternatif bioetanol. Pentingnya penelitian ini dilakukan ialah untuk mengetahui potensi limbah nira siwalan sebagai bahan dasar pembuatan bioetanol dengan variasi lama fermentasi dan konsentrasi urea yang berbeda.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Sesuai dengan paparan latar belakang tersebut maka rumusan masalah pada penelitian ini ialah sebagai berikut:

1. Apakah ada pengaruh kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi bioetanol limbah nira siwalan ?



2. Apakah ada pengaruh kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap nilai pH substrat fermentasi bioetanol limbah nira siwalan ?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dari diadakannya penelitian ini yakni:

1. Membuktikan adanya pengaruh kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol dari fermentasi bioetanol limbah nira siwalan.
2. Membuktikan adanya pengaruh kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar pH substrat fermentasi bioetanol limbah nira siwalan.

### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Terdapat pengaruh interaksi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol substrat limbah nira siwalan.
2. Terdapat pengaruh interaksi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap nilai pH.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan alternatif bahan baku pembuatan bioetanol.
2. Peningkatan potensi sumberdaya alam di daerah Pantura Jawa Timur khususnya di Kabupaten Lamongan.
3. Pengembangan dan inovasi sumber energi terbarukan (*renewable*).
4. Berpartisipasi dalam pengembangan dan kemajuan di bidang Ilmu Pengetahuan dan Teknologi khususnya di bidang Ilmu Biologi.

### **1.6 Batasan Masalah**

Batasan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Sampel nira siwalan didapat dari petani di Desa Sumurgayam, Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan.

2. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang  $\pm 27^{\circ}\text{C}$  dengan pH 5.
3. Fermenter yang digunakan adalah ragi roti dengan merek “Fermipan” yang didapatkan dari toko bahan kue.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Siwalan**

Siwalan (*Borassus flabellifer* L) merupakan salah satu tumbuhan jenis palma yang memiliki potensi di Indonesia dalam menghasilkan nira. Kecenderungan dari tumbuhan ini ialah dapat tumbuh pada lahan kritis dengan habitat ideal berupa dataran yang kering dan terbuka serta memiliki ketinggian 0-500 meter di atas permukaan laut. Distribusi dari tumbuhan siwalan di Indonesia ialah pada daerah pantai Jawa Timur (Lamongan, Gresik serta Tuban), Jawa Tengah, Bali, NTT, NTB, Maluku Tenggara serta Sulawesi Selatan (Apriyanti, 2018).

##### **2.1.1 Morfologi Tanaman Siwalan**



Gambar 2.1 Tanaman Siwalan  
(Heryani, 2016)

Siwalan memiliki akar berupa akar serabut dengan bentuk yang besar dan panjang, batang berbentuk silindris dan tunggal dengan dasar batang yang penuh dengan akar samping. Batang muda siwalan berwarna hitam dengan posisi yang terbungkus oleh dasar tangkai yang telah mengering. Selain itu, terdapat empulur yang lunak pada batang muda siwalan sehingga juga dapat dijadikan sagu untuk dikonsumsi. Sementara itu, tekstur batang tua lebih halus dengan permukaan

yangg berlekuk pada bagian bekas tangkai dan daun menempel. Selain itu, terdapat umbut (palm heart) yang terletak pada ujung batang yang memiliki rasa manis sehingga dapat dimakan (Tambunan, 2010).

Daun siwalan diklasifikasikan ke dalam daun menyirip yang letaknya berada pada ujung batang dengan susunan melingkar 24 sampai 40 helai serta berbentuk kipas. Selama satu bulan, setiap tangkai daun akan tumbuh helaian, dimana helaian ini berwarna hijau keabuan dengan lebar daun 1-1,5 m yang susunannya terdiri dari 6-8 lipatan. Tulang daun menunjang setiap anak daun sepanjang 40-80 cm yang letaknya di bawah helaian anak daun. Tepian tangkai daun dari tumbuhan siwalan tempak berduri dan berkayu berwarna coklat kehitaman (Tambunan, 2010).

Setiap pohon siwalan dapat menghasilkan buah sebanyak 6-12 tandan. Buah siwalan berbentuk bulat dengan diameter berkisar dari 10 hingga 15 cm. Ketika masih muda, buah siwalan berwarna hijau, namun ketika sudah tua maka berganti warna menjadi warna ungu kehitaman. Rasa dari daging buah siwalan manis dengan tekstur kenyal seperti agar dan berair dan setelah tua, daging buah ini dapat mengeras. Buah siwalan ditutupi oleh tempurung yang keras dan tebal, dimana setiap tempurung buah siwalan terdapat tiga buah siwalan (Tambunan, 2010).

Tanaman siwalan pertama mampu hidup hingga 100 tahun dengan bunga yang dapat muncul pertama kali pada umur 12 tahun dan berlanjut hingga umur 20 tahun. Tanaman siwalan dibagi menjadi jantan dan betina berdasarkan keberadaan bunga. Umumnya, bunga pohon jantan ini tunggal yang tumbuh dari ketiak daun dan sangat jarang bertangkai kembar. Beberapa bulir yang menempel

pada bunga jantan yang berbentuk bulat disebut sebagai tandan, dimana setiap tandan terdiri dari 4-15 bulir dengan panjang bulir berkisar 30-60 cm dan diameter 2-5 cm. Sedangkan jumlah tandan pada bunga betina terdiri dari 4-10 bulir. Ukuran bunga betina kecil dan memiliki *bractea* (daun pelindung), dimana nantinya menjadi buah. Jumlah dalam setiap siwalan bergantung pada proses penyerbukan, dimana terdiri dari 1-3 biji (Tambunan, 2010).

Klasifikasi tanaman siwalan adalah sebagai berikut (Suroyya, 2016) :

Kingdom : Plantae

Divisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Ordo : Palmae

Famili : Palmaceae

Genus : *Borassus*

Spesies : *Borassus flabellifer* Linn.

Tanaman siwalan dapat dimanfaatkan dari akar hingga buahnya, oleh masyarakat Jawa Timur khususnya di kabupaten Lamongan memanfaatkan bagian-bagian dari tanaman siwalan menjadi berbagai macam produk, baik produk makanan, minuman, alat rumah tangga ataupun yang lainnya. Menurut Arifah (2007) masyarakat sering memanfaatkan tanaman siwalan karena memiliki banyak kegunaan, yakni buah siwalan dikonsumsi secara langsung sebagai makanan; nira atau getah dari bunga siwalan dimanfaatkan sebagai minuman (*legen*), gula jawa cair, gula jawa padat dan tuak; batang siwalan dimanfaatkan sebagai kayu bakar, bahan kerajinan, bahkan bahan bangunan; daun siwalan dimanfaatkan sebagai ketupat, pembungkus makanan, tas, tumbu, mainan anak-

anak, tempat pisau, gayung, dan atap gubuk dan sabut siwalan dimanfaatkan untuk pakan ternak dan bahan bakar.

Menurut Nisansala (2021) beberapa kegunaan dari tanaman siwalan yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat antara lain: kayu untuk konstruksi; daun untuk pagar, atap dan kerajinan anyaman; ijuk untuk tali dan getah (nira) untuk diminum. Akar lontar muda tinggi kalsium dan dikonsumsi sebagai makanan ringan, dan juga digiling untuk membuat tepung untuk bubur yang disebut *khol*. *Jaggery*, gula aren murni berwarna emas yang lezat terbuat dari *toddy* lontar yang tidak difermentasi. Biji lontar yang berkecambah membentuk kecambah berdaging dibawah permukaan yang dapat direbus dan dimakan sebagai makanan berserat dan bergizi. Kernel berair yang renyah juga dapat dimakan dan lebih manis. Kernel di dalam cangkang keras adalah jeli yang dapat dimakan yang kaya akan mineral. Dari mahkota pohon yang berdaging, kue bisa dibuat.

## **2.2 Nira Siwalan**

Nira dapat dimanfaatkan oleh petani ataupun masyarakat karena merupakan hasil utama dari tanaman siwalan. Nira dapat langsung diminum sebagai minuman segar atau dibiarkan hingga didalamnya terdapat proses fermentasi oleh mikoba sehingga menghasilkan alkohol alami yang kemudian disebut sebagai sopi atau tuak oleh masyarakat tradisional (Tambunan, 2010). Nira pada siwalan dapat diperoleh dengan melakukan pemotongan pada kelopak sehingga keluar cairan manis yang dapat dihisap dalam bunga. Nira ini dapat dijadikan sebagai bahan utama dalam pembuatan minuman oleh masyarakat lokal yang biasa dikenal dengan *legen* dan tuak. Haisya (2011) mengungkapkan bahwa keberadaan nira swalan banyak tersedia di Jawa Timur, yakni pesisir pantai Lamongan, Gresik, dan Tuban (Arifah, 2007).

Hasil fermentasi nira yang dinilai dapat bernilai jual tinggi ialah etanol, asam asetat, gliserin, ataupun sudah berbentuk *nata de nira*, dimana etanol dan asam asetat ini termasuk senyawa organik. Masyarakat setempat masih melakukan pengolahan terhadap nira dengan cara konvensional berupa memanasakannya agar dapat diperoleh gula cair ataupun gula merah (Tambunan, 2010). Beberapa nira yang diambil berasal dari berbagai tanaman palmae, yakni seperti aren (*Arenga pinnata*), siwalan (*Borassus flabeellifer* L.), kelapa (*Cocos nucifera*), dan Nipah (*Nypa fructicans*) dengan kandungan gula sebesar 10-20% (Haisya, 2011).

**Tabel 2.2 Kadar gula nira dari berbagai tanaman palmae (Arifin, 2019)**

Jenis Tanaman	Kadar Gula yang terkandung dalam Nira (%)	Sumber
Kelapa	12-18	Komaryanti dan Gusmailina (2010)
Nipah	13-17	Dahlan (2009)
Sorgum	11-16	Komaryanti dan Gusmailina (2010)
Siwalan	10-15	Halim (2008), Sholikhah (2010)
Aren	10-12	Halim (2008)
Tebu	9-17	Komaryanti dan Gusmailina (2010)

Kandungan gula yang terdapat di dalam nira siwalan berbentuk gula *invert* (Sholikhah, 2010). Gula *invert* yakni gula hasil pemecahan sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, dimana prosesnya disebut invers. Pemecahan tersebut dapat dijalankan oleh enzim enzim sukrase atau invertase (Poedjiadi, 2012). Enzim tersebut diproduksi oleh tumbuhan tingkat tinggi, beberapa sel hewan, ataupun mikroba, salah satunya ialah *Saccharomyces cerevisiae* (Prabawa, 2012).

Nira siwalan yang telah disadap harus ditangani secepatnya karena terdapat nutrisi yang lengkap di dalam nira tersebut, antara lain gula, protein, lemak serta mineral (tabel 2.2) sehingga dapat dijadikan sebagai media yang baik dalam menumbuhkan mikroba, baik bakteri, kapang maupun khamir (Suseno, 2000).

**Tabel 2.3 Komposisi nutrisi dalam nira siwalan (Suseno, 2000).**

Komposisi Nira	Kadar (%)
Air	86,1
Protein	0,3
Lemak	0,02
Karbohidrat	13,54
Mineral sebagai Abu	0,04

Terdapat dua mikoba yang berada pada nira siwalan yakni *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus plantarum*, dimana mikroba ini mengakibatkan adanya kerusakan pada nira siwalan (Fauziyah, 2015). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu jenis khamir yang mampu dalam mengonversi karbohidrat sederhana menjadi etanol (Hidayat, 2006) sedangkan *Lactobacillus plantarum* merupakan suatu jenis bakteri asam laktat (BAL) dengan kemampuan dalam mengonversi karbohidrat sederhana menjadi asam laktat (Purwoko, 2007).

Menurut Haisya (2011), diperlukan adanya gula yang terdapat di dalam substrat seperti nira siwalan, singkong, sagu, ubi jalar, sorgum, nira nipah, dan nira aren dalam mengembangkan hasil bioetanol. Pemanfaatan nira siwalan terkenal sebagai minuman beralkohol, yakni tuak sehingga nira siwalan ini dianggap sebagai sebuah pilihan yang menonjol. Etanol yang terkandung di



dalam niira siwalan hasil fermentasi selama 130 jam menunjukkan hasil tertinggi pada suhu distilasi 100°C yakni sebesar 8,658% (Sholikhah, 2010).

### 2.3 Bioetanol

Ditinjau dari istilahnya, bioetanol berasal dari kata bio yang berarti hidup dan etanol berarti etil alkohol. Bioetanol dapat didefinisikan sebagai suatu cairan hasil fermentasi gula, dimana diperlukan adanya bantuan dari mikroba. Etanol yang dapat dibentuk melalui bahan organik yang terdiri atas komponen gula, pati, ataupun selulosa disebut sebagai bioetanol. Dengan demikian, arti dari bioetanol yakni sebuah produk sebagai hasil dari fermentasi yang berasal dari tanaman dengan memerlukan peran mikroba. Bioetanol ini harus bersifat *biodegradable* (dapat diuraikan secara biologis), bening, kandungan toksisitas rendah serta tidak menyebabkan pencemaran udara (Solikhin, 2012).

Salah satu keunggulan yang dapat diperoleh dari bioetanol ialah mampu mengurangi emisi karbon dioksida di atmosfer hingga 18% (Wusnah, 2016). Ditinjau dari segi susunannya, bioetanol terdiri dari senyawa alkohol (OH), dua atom karbon (C) sehingga rumus kimia dari bioetanol yaitu  $C_2H_5OH$  yang diperoleh melalui fermentasi gula dengan khamir. Selain itu, senyawa bioetanol juga dapat diperoleh dengan cara sintetik yang lebih dikenal sebagai etanol saja. Perbedaan antara etanol hasil sintetik etilena dengan bioetanol adalah bahan baku gula dari bioetanol berasal dari sumber hayati (Megawati, 2015).

Etanol dikategorikan dalam dua kelompok utama yaitu kadar etanol sebanyak 95-96% dapat disebut sebagai “etanol hidrat”, dimana etanol ini dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan kegunaannya, antara lain etanol yang dijadikan minuman, pelarut, serta desinfektan berupa *technical/raw spirit grade*; etanol sebagai bahan baku dalam industri pelarut yakni *industrial grade*; dan

etanol yang digunakan dalam pembuatan minuman dengan kualitas tinggi berupa *potable grade*. Etanol >99.5 % v/v, yang dapat difungsikan sebagai bahan bakar. Namun, jika dilakukan pemurnian lebih lanjut pada etanol jenis ini maka hasilnya dapat digunakan dalam keperluan farmasi sebagai pelarut. Etanol jenis ini dikenal juga sebagai *fuel grade ethanol (FGE)* atau *anhydrous ethanol* (etanol anhidrat) atau etanol kering, yakni etanol dengan kandungan air yang terbatas (Hanum dkk., 2013).

Kandungan etanol di dalamnya dalam kadar tertentu dapat digabung dengan bahan bakar minyak bumi. Menurut Komaryati (2014), ada beberapa sumber yang dapat dijadikan sebagai bahan baku dalam pembentukan bioetanol, antara lain nira bergula (nira siwalan, nira tebu, nira sorgum manis, nira nipah, nira kelapa, dan nira aren), bahan berpati (singkong, ganyong, sagu, ubi jalar, dan garut), serta lignoselulosa (jerami, kayu, bagas dan batang pisang).

Proses dari pembuatan bioetanol dengan bahan baku berpati berupa singkong, ganyong, sagu, ubi jalar, dan garut, antara lain (Lubad dan Widiastuti, 2010): Hidrolisis: proses pemecahan pati menjadi glukosa; fermentasi: Proses konversi glukosa menjadi etanol dan karbon dioksida, distilasi: Proses pemurnian etanol hasil fermentasi menjadi etanol 95-96%; dan dehidrasi: Proses penghilangan air hingga kadar etanol menjadi 99,5%.

Pemanfaatan bioetanol yang saat ini telah banyak dilakukan yakni sebagai bahan campuran bensin yang dikenal sebagai gasohol, dimana gasohol ini terdiri dari 10% bioetanol murni. Angka oktan gasohol mencapai nilai 92 yang hampir menyerupai angka oktan pertamax dengan nilai 92-95 (Azizah, 2012).

## 2.4 Fermentasi Alkohol

Tanda keesaan dan kekuasaan Allah SWT dapat dilihat melalui keajaiban alam semesta beserta cara kerjanya, dimana mengenai hal tersebut, Allah telah berfirman di dalam Al-Qur'an Surat Ali Imran [3] : 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَطٰلًا سُبْحٰنَكَ  
فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۝

Artinya :

*“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.*

M. Quraish Shihab dalam jurnal Zaini (2018) menjelaskan bahwa keseluruhan rangkaian ciptaan Allah yang tampak pada alam ini, al-Qur'an selalu menyebutnya sebagai fenomena alam yang disebut secara berulang dalam konteks manfaat bagi manusia. Rangkain ciptaan Allah tersebut seperti langit, bumi, matahari, bulan, bintang, siang, malam, hujan, angin, gunung, sumber air, sungai, tumbuhan, buah-buahan, hewan, dan sebagainya. Paparan mengenai fenomena tersebut telah ditegaskan sebanyak lebih dari 750 ayat di dalam Al-Qur'an. Penegasan secara berulang tersebut menandakan bahwa terdapat tujuan di dalamnya yakni agar manfaat serta kemudahan dapat diperoleh dari adanya fenomena tersebut serta sebagai pengingat terhadap manusia mengenai keesaan dan kekuasaan Allah. Dalam hal ini, salah satu fenomena tersebut adalah terkait dengan penciptaan khamir yang dapat berperan dalam proses fermentasi.

Fermentasi dapat diartikan sebagai suatu proses, dimana terjadi perubahan kimia melalui aktivitas enzimatik oleh mikroba pada substrat tertentu (Suprihatin, 2010). Perubahan tersebut dapat terjadi pada beberapa peristiwa seperti dekomposisi pati atau gula menjadi alkohol dan karbon dioksida, pengasaman

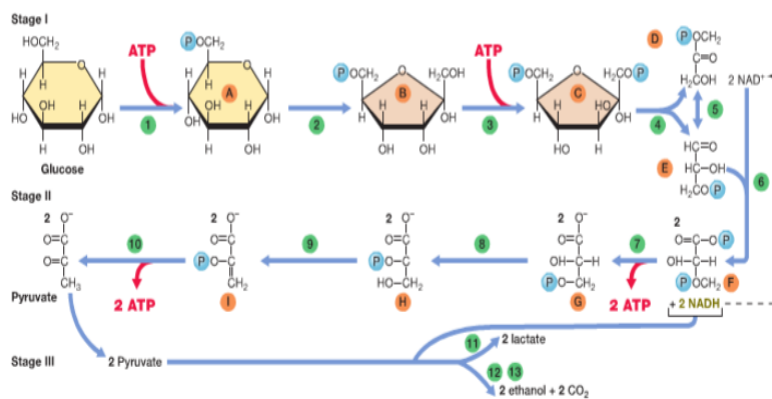
susu, serta oksidasi senyawa nitrogen organik (Hidayat, 2006). Proses fermentasi ini membutuhkan adanya starter yang dapat ditumbuhkan pada substrat. Starter sendiri berarti sekumpulan mikroba dengan kondisi fisiologis dan jumlah yang sesuai sehingga dapat diinokulasikan pada media fermentasi (Prabowo, 2011).

Fermentasi berdasarkan caranya, dikelompokkan menjadi dua jenis, yakni fermentasi spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan dapat terjadi ketika tidak dilakukan penambahan starter berupa khamir ke dalam prosesnya, sebaliknya fermentasi tidak spontan dapat terjadi dengan menambahkan starter dalam proses pembuatannya. Selama fermentasi berlangsung, mikroba secara aktif melakukan pertumbuhan dan perkembangan dalam perubahan bahan kimia (Suprihatin, 2010). Menurut Sulistiyaningrum (2008), jenis mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi berpengaruh terhadap keoptimalan fermentasi.

Etanol merupakan salah satu jenis metabolit (hasil metabolisme) sekunder sebagai produk dari fermentasi oleh mikroba. Perbedaan antara metabolit primer dan sekunder terletak pada waktu fermentasi, dimana metabolit primer dihasilkan melalui seluruh rangkaian proses fermentasi sedangkan metabolit sekunder dihasilkan ketika akhir fase log hingga fase stasioner. Produk ini secara tidak langsung digunakan oleh mikroba itu sendiri dalam melakukan pertumbuhan normal dan perkembangan reproduksi (Riadi, 2007).

Lajur metabolisme dari proses fermentasi ini sama dengan glikolisis hingga terbentuk piruvat, dimana proses ini juga disebut sebagai jalur metabolisme EMP (*Embden Meyerhoff Parnas*) (Lihat Gambar 2.2 ). Etanol terbentuk melalui reaksi glikolisis dengan jalur *Embden Meyerhof Parnas (EMP)*. Glikolisis terjadi

secara anaerobik yang menghasilkan piruvat yang akan dioksidasi oleh enzim alkohol dehydrogenase (Madigan, 2012).



**Gambar 2.2 Jalur Bioproses Etanol pada Jalur Glikolisis (Madigan, 2012).**

Faktor yang mempengaruhi hasil fermentasi diantaranya sebagai berikut

(Subrimobdi, 2016):

### 1. Kadar gula

Bahan baku dengan kadar gula tinggi memiliki efek negatif pada yeast, baik pada pertumbuhan maupun aktivitas fermentasinya. Apabila gula terlalu pekat, aktivitas enzim akan terhambat sehingga waktu fermentasi menjadi lambat dan jika gula terlalu encer maka kadar etanol yang dihasilkan rendah.

### 2. Nutrisi

Nutrisi diperlukan sebagai tambahan makanan bagi pertumbuhan yeast. Nutrisi yang diperlukan misalnya garam ammonium (NH<sub>4</sub>CL), (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO atau urea, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> atau NPK, dan garam phosphate (Pupuk TSP).

### 3. Oksigen

Oksigen diperlukan untuk pertumbuhan yeast, namun dalam proses pembentukan etanol oksigen tidak diperlukan karena proses fermentasi etanol

bersifat anaerob. Jika udara terlalu banyak maka mikroba hanya bekerja untuk memperbanyak jumlah sel sehingga produksi etanol sedikit. Kondisi yang baik selama fermentasi adalah kondisi yang tertutup atau lebih cenderung anaerob dengan dibatasi oleh udara yang tersedia sedikit  $\pm$  10% dari volume ruang fermentor.

#### 4. Derajat keasaman (pH)

Menurut Putra dan Amran (2009), *Saccharomyces cerevisiae* dapat tumbuh baik pada rentang 3-6 namun apabila pH lebih kecil dari 3 maka proses fermentasi akan berkurang kecepatannya, pH paling optimum pada 4,3 - 4,7. Menurut Chairul dan Sivia (2013) fermentasi pada pH 4,5 menghasilkan konsentrasi bioetanol yang tinggi.

#### 5. Temperatur

Suhu fermentasi secara tidak langsung dapat mempengaruhi aktivitas enzim dan adanya penguapan etanol. *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai temperatur maksimal sekitar 40 - 50°C dengan temperatur minimum 0 °C. Kecepatan fermentasi akan bertambah sesuai dengan suhu yang optimum umumnya 27 - 32°C (Putra dan Amran, 2009).

#### 6. Waktu

Waktu diperlukan mikroba untuk mengubah gula menjadi etanol. Lamanya waktu yang dibutuhkan tentunya berbeda-beda karena dipengaruhi banyak hal. Faktor yang mempengaruhi yaitu kandungan gula, jumlah mikroba yang diberikan, nutrisi dan lain-lain.

## 2.5 *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu jenis mikroba yang dapat digunakan dalam fermentasi bioetanol karena mikroba tersebut bersifat toleran terhadap kadar alkohol dan yield etanol yang tinggi, serta laju fermentasi yang cepat (Silaban, 2017). Khamir ini diungkapkan oleh Hasanah (2012) bahwa memiliki enzim zymase yang berfungsi dalam perubahan gula berupa glukosa ataupun fruktosa menjadi etanol dan karbon dioksida. Perubahan zat tersebut tidak hanya dilakukan oleh satu jenis enzim, melainkan beberapa enzim berbentuk sistem yang bekerja secara berkesinambungan sehingga terbentuk reaksi kimiawi dengan hasil akhir berupa suatu produk spesifik yakni etanol dan karbon dioksida (Pelczar & Chan, 2013).

Kelebihan khamir ini dibandingkan dengan mikroba penghasil etanol yang lain ialah tingkat penyesuaian terhadap lingkungannya tergolong tinggi sehingga pertumbuhannya mudah dilakukan pengontrolan, memiliki kemampuan toleran terhadap alkohol yang tergolong tinggi sehingga khamir tidak mati akibat kondisi alkohol tinggi ketika proses fermentasi tetap berlangsung, dan hasil alkohol yang cukup tinggi sebesar 18-20% (v/v) (Azizah, 2012).

Faktor yang mempengaruhi produksi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* diantaranya adanya sumber energi berupa gula ataupun bahan yang terdapat gula pada substrat (Kunaepah, 2008). Ditambahkan oleh Pelczar (2012) bahwa karbohidrat jenis apapun dapat difermentasi oleh khamir sehingga terbentuk etanol. Faktor lain yakni lamanya fermentasi. Optimalnya, bioproses dari bioetanol ialah 3 hari dan setelah itu dapat menyebabkan kadar alkohol akan menurun karena alkohol tersebut dapat dikonversi menjadi ester (Sari, 2008).

Ditambahkan oleh Fitria (2021) bahwa lamanya fermentasi juga berkaitan dengan pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevisiae* dan pertumbuhan dari mikroba dapat diilustrasikan ke dalam kurva pertumbuhan yang menunjukkan setiap fase pertumbuhan. Fase tersebut terbagi menjadi empat, yakni fase adaptasi, fase tumbuh cepat, fase stasioner dan fase kematian.

Gambaran dari fase adaptasi dimulai dengan garis dari keadaan nol dan berakhir dengan sedikit kenaikan, dimana khamir *Saccharomyces cerevisiae* masih melakukan adaptasi terhadap lingkungannya sehingga belum terdapat pertumbuhan yang signifikan. Kemudian, sesuai namanya, pada fase tumbuh cepat ini ditunjukkan penggambaran kurva dengan adanya peningkatan pertumbuhan yang tinggi karena gula yang tersedia dipecah agar pertumbuhannya terpenuhi secara maksimal. Fase stasioner diilustrasikan dengan garis kurva yang mendatar berarti bahwa jumlah antara khamir yang hidup dengan khamir yang mati sebanding. Fase terakhir ialah fase kematian yang digambarkan dengan adanya garis kurva yang menurun. Jumlah khamir pada fase ini lebih banyak yang mati hingga pada akhirnya seluruh khamir mati (Fitria, 2021).

Proses fermentasi yang optimal membutuhkan kisaran suhu 30-35°C dengan suhu terendah 20°C dan suhu tertinggi 35°C. Hal ini dikarenakan suhu dibawah 30°C akan memperlambat proses fermentasi dan diatas 35°C dapat mengakibatkan khamir mati (Kumalasari, 2011). Hidayat (2006) menegaskan bahwa adanya reaksi eksoterm menyebabkan peningkatan panas selama fermentasi. Pendingin diperlukan untuk menjaga suhu 26-30°C untuk mencegah fermentasi tidak naik.

Kisaran pH yang sangat ideal bagi pertumbuhan khamir *Saccharomyces cerevisiae* adalah pada kisaran pH 4-5. Produk hasil sampingan dari proses



fermentasi dapat dipengaruhi oleh adanya perubahan pH. Fase lag akan semakin pendek dan aktivitas fermentasi menjadi meningkat pada pH tinggi (Rahim, 2009). Jika substrat bersifat asam atau basa maka penambahan asam sulfat dapat mengubah pH, jika tidak, dapat ditambahkan natrium bikarbonat yang juga dapat mengubah glukosa menjadi etanol (Hidayat, 2006). Selain itu, khamir bersifat anaerob selama fermentasi berlangsung tetapi membutuhkan oksigen ketika membuat starter (Hidayat, 2006).

Selain lima faktor di atas, penambahan nutrisi ke dalam substrat juga dapat membantu peningkatan produksi bioetanol. Salah satu nutrisi yang dapat ditambahkan adalah urea yang merupakan sumber nitrogen untuk pertumbuhan khamir (Fitria, 2021). Ditambahkan oleh Najah (2009) bahwa fungsi dari penambahan urea dalam proses fermentasi yakni untuk meningkatkan aktivitas dari khamir dalam melakukan pertumbuhannya.

Tidak berbeda dengan mikroba yang lain, khamir jenis ini juga membutuhkan media atau substrat dengan kondisi lingkungan dan nutrisi yang sesuai dalam menunjang pertumbuhannya. Nutrisi yang diperlukan tersebut berasal dari golongan nutrisi makro yang terdiri dari C, N, P, dan K. Unsur C merupakan sumber karbon yang didapat melalui glukosa sedangkan unsur N, P, K dapat berasal dari penambahan zat yang mengandung unsur tersebut (Najah, 2009).

Nutrisi tersebut dapat dijadikan oleh mikroba, dalam hal ini khamir *Saccharomyces cerevisiae*, sebagai penyedia energi, nitrogen, mineral, dan vitamin. Berdasarkan hal tersebut, nitrogen merupakan salah satu nutrisi yang diperlukan oleh mikroba dalam melakukan pertumbuhan sehingga diperlukan zat

yang mengandung sumber nitrogen. Salah satu zat yang dapat dijadikan sebagai penyedia sumber nitrogen bagi kelangsungan hidup khamir ialah urea. Urea menjadi sumber nitrogen terbesar selain amonium sulfat dan pepton dengan kadar nitrogen sebesar 46% (Rahmah, 2015). Pranata (2017) juga mengungkapkan bahwa urea yang ditambahkan ke dalam substrat tersebut dapat dijadikan sebagai nutrisi bagi khamir dalam pertumbuhan sel melalui proses fermentasi bioetanol. Nitrogen yang berada di dalam urea berasal dari hidrolisis amonium karbonat menjadi amonium sehingga nitrogen di dalamnya dapat digunakan oleh mikroba sedangkan unsur lainnya dapat keluar sel bersama dengan sisa metabolisme (Riza, 2016).

## **2.6 Distilasi**

Proses distilasi merupakan suatu proses pemisahan campuran dengan menggunakan titik didih dan *relative volatility* nya. Zat dengan *relative volatility* yang tinggi akan naik keatas dan akan dikondensasikan untuk mendapatkan distilat, sedangkan yang gagal menguap akan diambil sebagai residu. Distilasi biasanya menggunakan dua tahapan, yakni menguapkan dan mengembungkan tanpa adanya refluks dan tahapan kedua yakni mengembalikan sebagian uap yang dikondensasi untuk menjaga suhu *tray* atas dan menaikkan konsentrasi distilat (Suharto, 2020).

Prinsip utama metode distilasi adalah bekerja berdasarkan perbedaan titik didih dari masing-masing senyawa komponen campuran pada tekanan tetap. Perbedaan titik didih ini menyebabkan perbedaan volatilitas pada komponen campuran dan merupakan sifat instrinsik dari senyawa penyusun campuran.

Perbedaan ini sangat potensial untuk dijadikan sarana pemisahan asalkan tekanan dibuat tetap (Wonorahardjo, 2013).

Proses distilasi berlangsung jika campuran dipanaskan dan sebagian komponen volatil menguap naik dan didinginkan sampai mengembun di dinding kondensor. Distilat ini ditampung di sebuah tempat baru, distilasi sederhana akan diembunkan dan dialirkan turun ke tempat penampungan. Dalam kondisi distilasi sederhana memang tidak terjadi fraksionasi pada saat kondensasi karena komponen campuran tidak banyak. Jika campuran terdiri dari banyak komponen maka cara sederhana ini tidak dapat digunakan karena kondensat atau distilat yang didapat masih merupakan campuran juga (Wonorahardjo, 2013).

Proses distilasi dijalankan dengan bantuan beberapa peralatan yang khusus dirancang untuk itu. Pada prinsipnya campuran yang akan didistilasi atau dimurnikan berada di labu distilasi. Adapun labu distilasi dipanaskan dengan pemanas elektrik yang mempunyai pengatur suhu secara otomatis. Adapun uap yang dihasilkan pada pemanasan akan dialirkan langsung ke kondensor yang merupakan unit pendingin uap sehingga terjadi kondensasi. Kondensor terdiri dari dua buah pipa, di antaranya pipa dalam dan pipa luar terdapat air yang selalu berganti secara kontinu sehingga temperatur stabil. Kondensor didinginkan dengan air yang masuk dari kran air melalui pipa dan dikeluarkan lagi lewat lubang ke bak penampungan. Sebelum melalui kondensor kadang-kadang diperlukan kolom distilasi yang panjang dan bentuknya bisa diatur. Kolom distilasi ini pada skala laboratorium dilengkapi termometer untuk menjaga kestabilan temperatur supaya arus uap tidak terlalu deras dan dapat dikondensasikan semua di kondensor. Jika tekanan uap terlalu tinggi ada

kemungkinan uap menerobos keluar dan hilang dari sistem. Uap yang mengembun pada kondensor (posisi miring, supaya tetesan embun dapat turun dengan bebas) akan ditampung di labu melalui adaptor, bisa juga dilengkapi kran (Wonorahardjo, 2013).

## 2.7 Analisis kadar Etanol

Gravitasi jenis (specific gravity/SG) suatu zat cair didefinisikan sebagai perbandingan kerapatan zat cair tersebut dengan kerapatan air pada sebuah temperatur tertentu. Biasanya temperatur tersebut adalah 4°C, dan pada temperatur ini kerapatan air adalah 1000 kg/m<sup>3</sup>. Dalam bentuk persamaan, gravitasi jenis dinyatakan sebagai (Munson dkk., 2003).

$$SG = \frac{\rho \text{ larutan}}{\rho \text{ air @ derajat celcius}}$$

Kerapatan (density) dilambangkan sebagai  $\rho$  suatu zat cair adalah ukuran untuk konsentrasi zat cair tersebut dan dinyatakan dalam massa per satuan volume. Sifat ini ditentukan dengan cara menghitung nisbah (*ratio*) massa zat yang terkandung dalam suatu bagian tertentu terhadap volume bagian tersebut (Olson dan Wright, 1993). Nilai kerapatan dapat bervariasi cukup besar di antara zat cair yang berbeda, namun untuk zat-zat cair, variasi tekanan dan temperatur umumnya hanya memberikan pengaruh kecil terhadap nilai  $\rho$  (Munson dkk., 2003).

Kerapatan semua zat cair bergantung pada temperatur serta tekanan sehingga temperatur zat cair serta temperatur air yang dijadikan acuan harus dinyatakan untuk mendapatkan harga-harga gravitasi jenis yang tepat (Olson dan Wright, 1993). Kadar etanol yang ada dalam sampel larutan yang mengandung

etanol dapat ditetapkan nilainya berdasarkan nilai gravitasi jenis. Namun sebelum ditetapkan, sampel tersebut telah mengandung partikel yang bebas dari semua zat-zat lain yang terlarut maupun tidak terlarut kecuali air. Untuk itu, dilakukan proses distilasi sederhana terlebih dahulu sebelum menetapkan kadar etanol (Bhavan dan Marg, 2005).

Gravitasi jenis suatu zat cair dapat ditentukan dengan menggunakan metode piknometer. Metode ini dapat mengetahui kadar etanol suatu cairan secara tepat. Dalam metode ini, dibutuhkan alat piknometer. Piknometer yang dipakai biasanya mempunyai kapasitas volume 50 ml. Gravitasi jenis suatu zat cair dihitung menggunakan rumus (Bhavan dan Marg, 2005):

$$SG \text{ sampel} = \frac{\text{massa sampel pada piknometer 50 ml} \\ \text{dengan suhu ruangan } t^{\circ}\text{C}}{\text{massa air pada piknometer 50 ml} \\ \text{dengan suhu ruangan } t^{\circ}\text{C}}$$

**BAB III**  
**METODE PENELITIAN**

**3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eskperimental dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol. RAL digunakan dengan pola faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah variasi lama fermentasi yang terdiri dari tiga taraf perlakuan yaitu 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Faktor kedua adalah variasi penambahan urea yang terdiri dari empat taraf yaitu 0 gram; 0,2 gram; 0,4 gram; dan 0,6 gram. Berdasarkan kombinasi faktor-faktor tersebut diperoleh 12 perlakuan dan dilakukan tiga kali ulangan sehingga diperoleh 36 perlakuan kombinasi.

**Tabel 3.1 kombinasi perlakuan lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol dari limbah nira siwalan.**

Lama fermentasi	Penambahan Urea (gram)			
	0	0,2	0,4	0,6
	(U <sub>0</sub> )	(U <sub>1</sub> )	(U <sub>2</sub> )	(U <sub>3</sub> )
48 jam (T <sub>1</sub> )	T <sub>1</sub> U <sub>0</sub>	T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>
72 jam (T <sub>2</sub> )	T <sub>2</sub> U <sub>0</sub>	T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>
96 jam (T <sub>3</sub> )	T <sub>3</sub> U <sub>0</sub>	T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>

Berdasarkan tabel diatas, maka diperoleh kombinasi perlakuan sebagai berikut :

T1U0 : lama fermentasi 48 jam, konsentrasi urea 0 gram

T1U1 : lama fermentasi 48 jam, konsentrasi urea 0,2 gram

T1U2 : lama fermentasi 48 jam, konsentrasi urea 0,4 gram

T1U3 : lama fermentasi 48 jam, konsentrasi urea 0,6 gram

T2U0 : lama fermentasi 72 jam, konsentrasi urea 0 gram

T2U1 : lama fermentasi 72 jam, konsentrasi urea 0,2 gram

T2U2 : lama fermentasi 72 jam, konsentrasi urea 0,4 gram

T2U3 : lama fermentasi 72 jam, konsentrasi urea 0,6 gram

T3U0 : lama fermentasi 96 jam, konsentrasi urea 0 gram

T3U1 : lama fermentasi 96 jam, konsentrasi urea 0,2 gram

T3U2 : lama fermentasi 96 jam, konsentrasi urea 0,4 gram

T3U3 : lama fermentasi 96 jam, konsentrasi urea 0,6 gram

### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022 yang bertempat di Laboratorium Biokimia dan Pangan Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk melakukan proses fermentasi dan analisis kadar bioetanol. Sedangkan proses distilasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### **3.3 Alat dan Bahan**

#### **3.3.1 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : autoklaf, distilator, botol selai 300 ml, botol plastik 50 ml, selang, botol plastik 1500 ml, plastik tahan panas, neraca analitik, spatula, autoklaf, solder, erlenmeyer 250 ml, pipet tetes, erlenmeyer 100 ml, gelas ukur 100 ml, gelas beker 500 ml, corong, pH meter digital, termometer ruangan, oven, piknometer, dan satu unit alat distilasi.

#### **3.3.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah nira siwalan, aquades, yeast (ragi roti) merek "*fermipan*", plastisin, larutan buffer pH 10, larutan buffer pH 4, karet gelang, dan kantong plastik.

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Pengambilan Sampel Nira Siwalan dan Proses Inkubasi Nira**

Sampel nira swalan didapatkan dari petani nira siwalan di Desa Sumurgayam, Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan, air nira siwalan tersebut dimasukkan ke dalam botol aqua 1500 ml. Selanjutnya dilakukan inkubasi sampel nira siwalan segar selama 48 jam pada suhu ruang.

#### **3.4.2 Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang digunakan disterilisasi dengan cara dibungkus menggunakan kertas dan ditaruh di dalam plastik tahan panas ukuran 1 kg. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm (Sulistiyo, dkk., 2018).



### **3.4.3 Proses Fermentasi Bioetanol dengan Lama Fermentasi (48 jam, 72 jam dan 96 jam) dan Penambahan Urea (0 gram, 0,2 gram, 0,4 gram, dan 0,6 gram)**

Sampel nira siwalan yang telah diinkubasi diatur pHnya sehingga didapati angka pH 5. Kemudian diambil sampel nira sebanyak 200 ml dimasukkan kedalam botol fermentasi. Setelah itu ditambahkan ragi roti sebanyak 4 gram, penambahan urea dilakukan dengan variasi konsentrasi (0 gram, 0,2 gram, 0,4 gram, dan 0,6 gram) Selanjutnya botol selai ditutup dengan rapat dan dirangkai. Kemudian sampel tersebut diberi perlakuan variasi lama fermentasi yakni 48 jam, 72 jam, dan 96 jam.

### **3.4.4 Uji pH Substrat Fermentasi**

Pengujian pH substrat fermentasi limbah nira siwalan dilakukan menggunakan pH meter yang dicelupkan kedalam wadah fermentasi substrat tersebut. Sebelumnya dipastikan bahwa pH meter telah terkalibrasi dimana angka pH netral ditunjukkan dengan angka 7 menggunakan buffer pH. pH meter dicelupkan ke dalam botol kaca wadah fermentasi dan ditunggu hingga angka yang tertera tidak berubah. Pengujian pH dilakukan pada semua sampel, untuk pengujian ke sampel selanjutnya terlebih dahulu pH meter dicelupkan kedalam wadah yang berisi aquades.

### **3.4.5 Distilasi Hasil Fermentasi**

Sampel hasil fermentasi limbah nira siwalan dipipet sebanyak 100 ml. Kemudian ditampung dalam labu alas bulat kemudian labu distilat dipasang pada alat distilasi. Proses distilasi dilakukan pada suhu 100°C, karena titik didih alkohol 78 °C hingga 80°C dan distilat ditampung dalam botol plastik (Kurniawati, 2009).

### 3.4.6 Analisis Kadar Bioetanol dengan Piknometer

Kadar bioetanol dari sampel limbah nira siwalan hasil distilasi dianalisis menggunakan piknometer. Piknometer dikeringkan ke dalam oven pada temperatur 100°C selama 10 menit kemudian didinginkan sampai suhu kamar. Selanjutnya piknometer ditimbang dengan neraca analitik, lalu distilat dimasukkan ke dalam piknometer yang telah ditimbang sebelumnya hingga memenuhi piknometer. Dibersihkan kelebihan distilat pada puncak pipa kapiler menggunakan *tissue*. Lalu piknometer yang berisi sampel distilat ditimbang dan beratnya dicatat. Posedur yang sama dilakukan pada aquades sebagai pembanding (Jhonprimen dkk., 2012). Setelah itu, dicatat suhu runagan pada saat melakukan penimbangan. Gravitasi jenis (*specific gravity/SG*) etanol dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Azizah dkk, 2012) :

$$SG \text{ sampel} = \frac{(\text{berat piknometer berisi distilat}) - \text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat piknometer berisi aquades}) - \text{berat piknometer kosong}}$$

Hasil perhitungan gravitasi jenis sampel kemudian dikonversikan dengan menggunakan tabel gravitasi jenis dari *international Organization of Legal Metrology (IOML)* (Bhavan dan Marg, 2005).

### 3.5 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan program SPSS, lalu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Apabila semua data terdistribusi normal dan homogen, maka data tersebut kemudian dianalisis menggunakan uji *two-way ANOVA (Analysis of Variance)* guna mencari pengaruh lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol limbah nira siwalan. Jika terdapat

perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji lanjut yakni *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* dengan taraf signifikan 5%.

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **4.1 Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Urea terhadap Kadar Bioetanol Limbah Nira Siwalan**

Uji statistik anava dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol substrat limbah nira siwalan. Sebelumnya data diuji menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu. Data dikatakan normal dan homogen apabila memiliki nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 (Rahmawati dan Erina, 2020). Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data kadar bioetanol ( $p=0,068$ ) yang berarti data berdistribusi normal. Kemudian hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa data kadar bioetanol ( $p=0,912$ ) sehingga dapat dilanjutkan ke uji statistik anava dua jalur.

Hasil uji anava menunjukkan bahwa nilai signifikansi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol yakni sebesar 0,000 (Sig <0,05). Sehingga H1 diterima yang berarti terdapat pengaruh lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol. Untuk mengetahui perlakuan yang paling berpengaruh, maka dilakukan uji lanjut DMRT dengan taraf signifikansi 5%. Hasil uji DMRT disajikan pada tabel 4.1 (halaman 37).

Berdasarkan tabel 4.1 (halaman 37) dapat diketahui bahwa perlakuan lama fermentasi 72 jam tanpa penambahan urea (T2U0) tidak berbeda nyata dengan perlakuan lama fermentasi 72 jam dengan penambahan urea 0,4 gram (T2U2), lama fermentasi 72 jam dengan penambahan urea 0,6 gram (T2U3), lama fermentasi 96 jam tanpa penambahan urea (T3U0), dan lama fermentasi 96 jam dengan penambahan urea 0,2 gram (T3U1). Perlakuan lama fermentasi 48 jam tanpa penambahan urea (T1U0) tidak berbeda nyata dengan perlakuan lama

fermentasi 48 jam dengan penambahan urea 0,2 gram (T1U1) dan perlakuan lama fermentasi 72 jam dengan penambahan urea 0,2 gram (T2U1).

**Tabel 4.1 Hasil uji DMRT pengaruh lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar bioetanol substrat limbah nira siwalan**

Perlakuan	Rata-Rata Kadar Bioetanol	Notasi
TIU0	6,867	b
T1U1	6,867	b
T1U2	8,600	c
T1U3	13,067	f
T2U0	6,133	a
T2U1	6,733	b
T2U2	5,933	a
T2U3	5,933	a
T3U0	5,533	a
T3U1	6,067	a
T3U2	11,733	e
T3U3	9,333	d

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji Duncan dengan taraf signifikansi 5%

Berdasarkan tabel 4.1 perlakuan lama fermentasi 48 jam dengan penambahan urea 0,4 gram (T1U2) berbeda nyata dengan semua perlakuan. Perlakuan lama fermentasi 96 jam dengan penambahan urea 0,6 gram (T3U3) berbeda nyata dengan semua perlakuan. Perlakuan lama fermentasi 96 jam dengan penambahan urea 0,4 gram (T3U2) berbeda nyata dengan semua perlakuan. Perlakuan lama fermentasi 48 jam dengan penambahan urea 0,6 gram berbeda nyata dengan semua perlakuan (T1U3). Sehingga perlakuan terbaik ditunjukkan oleh interaksi lama fermentasi 48 jam dengan penambahan urea 0,6 gram (T1U3) dan memiliki kadar bioetanol tertinggi yakni sebesar 13%. Sedangkan rata-rata kadar bioetanol terendah dihasilkan dari interaksi lama fermentasi 96 jam dan perlakuan tanpa penambahan urea (urea 0 gram) (T3U0) yang memiliki kadar bioetanol 5,5%.

Agen mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari ragi roti. Ragi roti diketahui mengandung kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* yang mampu mengubah gula menjadi etanol dalam proses fermentasi. Pelczar dan Chan (2013) menjelaskan bahwa ragi roti berisi *Saccharomyces cerevisiae* yang telah mengalami proses seleksi, mutasi atau hibridasi agar dapat meningkatkan kemampuannya dalam fermentasi gula dengan baik dalam adonan sehingga mampu tumbuh dengan cepat.

Proses perombakan gula menjadi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* diawali dengan pembentukan enzim yakni enzim zimase dan enzim invertase. Azizah (2012) menjelaskan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* mampu mengkonversi gula menjadi etanol karena adanya enzim invertase dan enzim zimase, kedua enzim ini memiliki kemampuan dalam mengkonversi gula dari kelompok monosakarida dan disakarida. Enzim invertase aktif menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula disakarida, selanjutnya enzim zimase yang akan mengkonversi monosakarida menjadi alkohol dan karbondioksida.

Peningkatan kadar etanol menunjukkan adanya optimalisasi mikroba dalam mengkonversi gula menjadi etanol dengan tambahan nutrisi berupa nitrogen selama proses fermentasi. Kaltsum (2009), penambahan nitrogen pada media fermentasi mampu meningkatkan proses perombakan gula. Adanya sumber nitrogen pada substrat selaa fermentasi mampu meningkatkan populasi sel, laju fermentasi, dan produksi bioetanol. Meisela (2016) menambahkan bahwa

peningkatan kadar etanol dipengaruhi oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* dalam merombak gula menjadi etanol sehingga kadar etanol mengalami kenaikan.

Penurunan kadar etanol pada fermentasi limbah nira siwalan terjadi karena beberapa faktor. Sholikhah (2009) menjelaskan bahwa penurunan produksi etanol disebabkan karena mikroorganisme penghasil bioetanol telah mencapai fase kematian. Selain itu, etanol yang telah dihasilkan dapat juga teroksidasi menjadi asam asetat. Gafiera, dkk (2019) menambahkan bahwa terlalu banyak urea yang diberikan saat fermentasi bioetanol dapat mengakibatkan denaturasi protein sel *Saccharomyces cerevisiae* atau terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, ikatan gram dan terbukanya lipatan molekul protein. Selain itu jumlah urea yang berlebih dapat menyebabkan terbentuknya  $\text{NH}_3\text{N}$  yang bersifat racun bagi pertumbuhan khamir sehingga menurunkan etanol yang dihasilkan.

Menurut Garraway dan Evans (1984) dalam Ulum (2020), mikroorganisme dapat memanfaatkan amonia dan karbon dioksida yang dihasilkan dari penguraian sejumlah besar urea yang ditambahkan selama fermentasi untuk tujuan sintesis sel. Ditambahkan oleh Hermawan dkk. (2000) menjelaskan bahwa penambahan sumber nitrogen yang berlebih akan menyebabkan penurunan produksi etanol karena urea tersebut dapat bersifat sebagai inhibitor.

Penurunan produksi etanol di luar kondisi optimum dapat dikaitkan dengan kematian sel-sel tertentu yang disebabkan oleh jumlah nitrogen yang berlebihan, yang menyebabkan denaturasi protein sel. Jika terjadi denaturasi sel maka akan mengurangi produktivitas enzim yang pada akhirnya menghasilkan hasil etanol yang lebih rendah (Oktaniya, 2017). Namun, dalam kondisi sumber nitrogen yang kurang produksi etanol juga akan berpengaruh. Adnyana (2020) menjelaskan

bahwa jika *Saccharomyces cerevisiae* kekurangan sumber nitrogen maka kinerjanya dalam memperbanyak sel dan mengubah glukosa sehingga menjadi etanol kurang optimum.

#### **4.2 Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Urea terhadap Nilai pH Substrat Fermentasi Bioetanol Limbah Nira Siwalan**

Data pengamatan nilai pH substrat fermentasi limbah nira siwalan tersaji pada lampiran 1a. Berdasarkan hasil penelitian terdapat adanya penurunan nilai pH selama fermentasi. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa nilai pH substrat fermentasi memiliki nilai signifikansi ( $p=0,000$ ) yang berarti data hasil pengamatan kadar pH tidak terdistribusi secara normal karena penyebutan data terdistribusi normal jika nilai Sig < 0,05, sedangkan prasyarat sebelum dilakukan uji ANOVA (*Analysis Of Variance*) adalah data terdistribusi normal sehingga data hasil pengamatan nilai pH ini tidak dapat diuji menggunakan ANOVA dan uji lanjut sehingga data disajikan secara deskriptif.

Tabel 4.2 (halaman 41) menunjukkan bahwa rata-rata nilai pH tertinggi pada kombinasi perlakuan lama fermentasi 48 jam tanpa penambahan urea 0 gam (kontrol) dengan nilai rata-rata 5,00, sedangkan nilai pH terendah terdapat pada kelompok kombinasi perlakuan lama fermentasi 72 jam dan penambahan urea sebesar 0,2 gram dengan nilai rata-rata 2,27. Pada penelitian ini diketahui nilai pH substrat fermentasi mengalami penurunan setiap hari selama terjadinya fermentasi.

Menurut Fitria (2021) perubahan pH dalam fermentasi disebabkan karena sel khamir dalam aktivitasnya selain menghasilkan etanol juga menghasilkan asam-asam organik seperti asam asetat, asam tartarat, asam sitrat, asam malat,



asam laktat, asam butirat dan asam propionat sebagai hasil sampingan yang mana asam-asam ini mampu menurunkan pH substrat fermentasi.

**Tabel 4.2 Rata-rata nilai pH substrat fermentasi yang dipengaruhi lama fermentasi dan penambahan urea**

Perlakuan	Rata-Rata Nilai pH
T1U0	5
T1U1	4,7
T1U2	4,6
T1U3	4,9
T2U0	2,4
T2U1	2,3
T2U2	2,3
T2U3	2,3
T3U0	2,5
T3U1	2,7
T3U2	2,6
T3U3	2,6

Penurunan pH pada media fermentasi dipengaruhi karena adanya penambahan sumber nitrogen. Hal ini sesuai dengan Hermawan dkk. (2000) menjelaskan bahwa konsentrasi dan sumber nitrogen dapat mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme proses fermentasi. Penurunan tingkat pH dapat menghambat fermentasi karena enzim yang bertanggung jawab untuk memproduksi etanol hanya efektif dalam rentang pH tertentu. Imam (2008) menjelaskan bahwa produksi bioetanol oleh sel *Saccharomyces cerevisiae* yang paling optimum dapat dicapai dengan kondisi pH 4,2-6,5.

Berdasarkan tabel 4.2 terlihat bahwa pH tertinggi ditunjukkan pada kombinasi perlakuan T1U0. Sesuai dengan hasil perolehan kadar bioetanol tertinggi yakni pada kombinasi perlakuan T1U3 dengan nilai pH sedikit dibawah perlakuan T1U0. pH terus turun dan lebih rendah dari kombinasi perlakuan T1U3.

Hal ini sesuai dengan kadar bioetanol yang dihasilkan mulai dari kombinasi perlakuan T2U0 dan seterusnya lebih rendah daripada kombinasi perlakuan T1U3. Hasil penelitian tersebut sesuai dengan Pranata (2017) bahwa penurunan pH terjadi setiap hari ini erat kaitannya dengan perkembangan sel dan pembentukan bioetanol, dimana jika pH mengalami penurunan yang dapat membuat sel terganggu maka pembentukan bioetanol akan terganggu pula, sehingga produksi kadar etanol akan menurun.

#### **4.3 Pemanfaatan Limbah Nira Siwalan sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol dalam Perspektif Al-Qur'an**

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adanya limbah nira siwalan memiliki manfaat dan *mudhorot*. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT Al-Qur'an Surat Asy-Syu'ara [26]: 7 :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya

*“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”*

Surat Asy-Syu'ara ayat tujuh menjelaskan bahwa Allah menciptakan makhluk-Nya menjadi sesuatu yang pasti tidak sia-sia yang hal tersebut menunjukkan mengingat kebesaran Allah dan termasuk *“mu'amalah ma'a Allah”*. Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT memerintahkan manusia untuk lebih memperhatikan bumi, karena kuasa Allah begitu besar telah tumbuhkan pelbagai macam-macam tumbuhan yang baik. Kata *“zaujin”* sering dipakai untuk manusia yang bermakna berpasangan, namun arti sesungguhnya juga dapat mencakup seluruh makhluk ciptaan Allah. Jadi, makna dari *“kullu zaujin karim”* adalah berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang berpasangan,

artinya setiap tumbuhan yang diturunkan Allah ke bumi pasti mengandung dua hal yang beda (Ad-Dimasyqi, 2004).

Nira siwalan adalah cairan yang didapat dari bunga tanaman siwalan dengan cara disadap. Air nira ini merupakan sumber karbohidrat serta mengandung nutrisi yang lengkap sehingga nira merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu, nira siwalan ini tidak dapat bertahan lama. Kesegaran nira siwalan hanya mampu bertahan  $\pm 24-36$  jam sejak proses penyadapan. Nira dengan penyimpanan melewati dari waktu tersebut menjadi basi yang menyebabkan adanya limbah. Penelitian ini menggunakan substrat limbah nira siwalan untuk fermentasi bioetanol. Limbah yang jumlahnya melimpah ditengah masyarakat dapat menimbulkan akibat buruk bagi lingkungan. Allah SWT berfirman dalam Surat Al-A'raf [7]: 56:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ ٥٦

Artinya:

*“Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik”*

Surat Al-A'raf ayat 56 merupakan ayat yang mengandung “*mu'amalah ma'a alam*” yang berisi mengenai larangan manusia untuk tidak membuat kerusakan karena sesungguhnya perbuatan yang merusak lingkungan akan mengganggu kelestarian (Ad-Dimasyqi, 2004). Oleh karena itu penelitian ini memanfaatkan limbah nira siwalan yang merupakan bagian dari menjaga lingkungan dengan meminimalisir limbah yang ada. Manusia telah dipersilahkan oleh Allah untuk memanfaatkan dan mendayagunakan hasil alam dengan sebaik mungkin demi kemakmuran dan kemaslahatan hidup di dunia. Namun

pengeksploitasian sama sekali tidak diperkenankan atas dasar alasan apapun, karena berdasarkan pandangan Al-Qur'an pemilik hakiki lingkungan hanyalah Allah semata. Sedangkan hak milik manusia atas lingkungan hanyalah titipan yang wajib dikembalikan kembali kepada-Nya (Rodin, 2017).

Hasil penelitian pembuatan bioetanol dari limbah nira siwalan menunjukkan bahwa manusia yang diciptakan Allah dengan akal dan pikiran untuk mencari nilai kebermanfaatn dari limbah nira siwalan tersebut. Sekaligus sebagai implementasi “*muamalah ma'annas*”, sebagaimana diungkapkan oleh Budiyanto (2004) bahwa etanol memiliki beragam manfaat dalam berbagai bidang misalnya sebagai bahan pembuatan senyawa organik seperti asam asetat, ester, dan sebagai bahan antikoagulan. Ditambahkan oleh Chairul dan Yenti (2013) etanol banyak digunakan dibidang kesehatan sebagai antiseptik. Allah berfirman dalam surat An-Nahl [16]: 67:

وَمِنْ ثَمَرَاتِ النَّخِيلِ وَالْأَعْنَابِ تَتَّخِذُونَ مِنْهُ سَكَرًا وَرِزْقًا حَسَنًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ٦٧

Artinya :

*“Dan dari buah korma dan anggur, kamu buat minuman yang memabukkan dan rezeki yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang memikirkan”*

Ayat diatas menjelaskan bahwa jika seseorang memperbaiki amalannya maka dia juga telah berbuat kebaikan untuk dirinya sendiri dan begitupula sebaliknya jika seseorang berbuat jahat (zalim) maka akibat dari semua itu akan kembali kepada orang tersebut (Ash-Shiddieqy, 2000). Oleh karena itu alangkah baiknya sesama manusia sebagai makhluk sosial dapat memberikan manfaat kepada manusia lain. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan dan memberikan informasi kepada masyarakat terkait pemanfaatan limbah nira siwalan menggunakan penambahan urea sebagai

nutrisi mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi etanol yakni *Saccharomyces cerevisiae*, agar dapat diterapkan dengan baik dan benar.

## **BAB V PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea berpengaruh terhadap kadar bioetanol hasil fermentasi limbah nira siwalan. Kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada perlakuan kombinasi T1U3 yaitu lama fermentasi 48 jam dan penambahan urea 0,6 gram yakni sebesar 13% .
2. Kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea berpengaruh pada nilai pH substrat fermentasi limbah nira siwalan. pH yang sesuai dalam fermentasi bioetanol ini adalah 4,9 dimana pada pH tersebut kadar bioetanol yang diperoleh merupakan kadar bioetanol tertinggi dalam penelitian ini yakni sebesar 13%.

### **5.2 Saran**

1. Untuk menghasilkan kadar bioetanol tertinggi dalam penelitian ini adalah menggunakan lama fermentasi 48 jam dengan penambahan urea 0,6 gram.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menganalisis kadar asam asetat setelah proses fermentasi.
3. Perlu ditelusuri lebih lanjut mengenai masalah penjualan nira siwalan, seberapa besar rasio antara nira siwalan yang laku terjual dan yang tidak terjual dalam upaya meminimalisir penyalahgunaan sebagai minuman yang memabukkan (*tuak*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Ad-Dimasyqi, Ibnu K. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Pustaka Asy-Safi'i.
- Adnyana, Ketut Cahyadi, Rudi Kartika, dan Sibun Sitorus. 2020. Pembuatan Etanol Ummi Suweg (*Amorphophallus campanulatus* BI.) Oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan Penambahan Nutrisi NPK. *Jurnal Atomik*. 05(1) : 25-30.
- Akhir, Yaumil Mutia, Chairul, Drastinawati. 2015. Pembuatan Bioetanol Draai Fermentasi Nira Aren (*Arenga pinnata*) menggunakan *Yeast Saccharomyces cerevisiae* dengan Pengaruh Variasi Konsentrasi Nutrisi dan Waktu Fermentasi. *JOM FTEKNIK*. 2(1).
- Al Jazairi, Abu Bakar Jabir. 2008. *Tafsir Al-Atsar*. Jakarta : Darus Sunah Press.
- Apriyanti, I. R. 2018. Studi Potensi Pemanfaatan Limbah Serat Batok Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Bahan Baku Kerajinan Lokal (Benang). *Jurnal Teknologia*. 1(1).
- Arifah, Yuyun. 2007. Studi Etnobotani Tumbuhan Arecaceae (Palem-paleman) oleh Masyarakat pantura Kabupaten Gresik dan lamongan. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Arifin, Moh. Faizal. 2019. Pemanfaatan Limbah Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Sebagai Bahan Utama Pembuatan Bioetanol dengan Variasi Lama Destilasi. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Ash-Shiddieqy, Teungku M. Hasbi. 2000. *Tafsir Al-Quranul Majid An-Nur 3: surat 11-23*. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra.
- Azizah, N., A. N. Al-Baari, dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1(2).
- Bhavan, Manak dan Marg, Bahadur S. Z. 2005. *Indian Standard : Table of Alcoholometry (Pycnometer Methode) First Revision*. New Delhi : Bureau of Indian Standards.
- Chairul dan Yenti, Silvia Reni. 2013. Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Teknobiologi*. 4(2): 105-108.
- Edward. J dan Riadi. 2015. Time Effect dan pH Fermentation of Bioethanol Production from *Euchema cottono* Using Microba Association. *Majalah Biam*. 11(2): 63-75.
- Elinur. (2010). Perkembangan Konsumsi dan Penyediaan Energi dalam Perekonomian Indonesia. *Indonesian Journal of Agricultural Economocs (IJAE)*. 2(1).
- Fitria, Novi dan Eva Lindasari. 2021. Optimasi Perolehan Bioetanol dari Kulit Nanas (*ananas cosmosus*) dengan Penambahan Urea, Variasi Konsentrasi

- Inokulasi Starter dan Waktu Fermentasi. *Jurnal Online Institut Teknologi Nasional*. 1(9).
- Gafiera, Illiya N., Swetachattra, Fara P., Hardjono, Hardjono. 2019. Pengaruh Penambahan Nutrisi Urea Dalam Pembuatan Bioetanol Dari Kulit Pisang Kepok Dengan Proses Fermentasi. Politeknik Negeri Malang.
- Gozan, M. 2014. *Teknologi Bioetanol Generasi Kedua*. Jakarta : Erlangga
- Haisya, Nisa Bila Sabrina. 2011. The Potential of Developing Siwalan Palm Sugar (*Borassus flabellifer* Linn) as One of the Bioethanol Sources to Overcome Energi Crisis Problem in Indonesia. *2nd Internasional Conference on Enviromental Engineering and Aplications IPCBEE vol. 17*. Singapore : IACSIT Press.
- Hanum, Farida, N. Pohan, M. Rambe, R. Primadony, dan M. Ulyana. 2013. Pengaruh Massa Ragi dan Waktu Fermentasi terhadap Bioetanol dari Biji Durian. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 2(4): 49-54.
- Hasanah, H., S. Zaenab, dan A. Rofieq. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Singkong (*Manihot utilissima* Pohl). *Alchemy*. 2(1).
- Hayuningtyas, Sri Kusumastuti, Sunarto, dan Siti Lusi Arum Sari. 2014. Produksi Bioethanol dari Jerami Padi (*Oryza sativa*) melalui hidrolisis asam dan fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioteknologi*. 11 (1).
- Hermawan, D.R.W.A, T. Utami, dan M.N. Cahyanto. 2000. Fermentasi Etanol dari Buah Semu Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3015 menggunakan Amonium Sulfat dan Urea sebagai Sumber Nitrogen. *Agritech*. 20(2): 93-98.
- Heryani, H. 2016. *Keutamaan Gula Aren dan Strategi Pengembangan Produk*. Banjarmasin : Lambung Mangkurat University Press.
- Hidayat, N. M. dan Sri Suhartini. 2013. *Mikroobiologi Industri*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- Imam,
- Imron, S.,W. A. Nugroho, dan Y. Herdrawan. 2015. Efektivitas Penundaan Proses Fermentasi pada Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dengan Metode Penyinaran Ultraviolet. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. 3(3): 259-269.
- Ismawati dan R. Yuniastri. 2019. Penggunaan Jenis Laro Terhadap Perbedaan Organoleptik dan pH Nira Siwalan. *Journal of Food Technology and Agroindustry*. 1 (1).
- Jhonprimen H.S., Andreas Turnip dan M, Hatta Dahlan. 2012. Pengaruh Massa Ragi, Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi pada Bioetanol dari Biji Durian. *Jurnal Teknik Kimia*. No. 2 Vol. 18
- Kaltsum, U. 2009. Pengaruh Variasi nira tebu (*Saccharum officinarum*) dari beberapa varietas tebu dengan penambahan sumber nitrogen (N) dari tepung kedelai hitam (*Glycine soja*) sebagai substrat terhadap efisiensi fermentasi



- etanol. *Skripsi*. Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Komaryati, Sri Djarwanto, dan I Winarni. 2014. *Teknologi Produksi Ragi untuk Pembuatan Bio-Etanol*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Keteknikan Kehutanan dan Pengolahan Hasil Hutan.
- Kumalasari, Indah Jayanti. 2011. Pengaruh Variasi Suhu Inkubasi terhadap Kadar Etanol Hasil Fermentasi Kulit dan Bonggol Nanas (*Ananas sativus*). *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kurniati, Yuni, Iis Elfy Khasanah, dan Kurniawati Firdaus. Kajian Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Nanas (*Anans comosus*. L). *Jurnal Teknik Kimia USU*. 10 (2).
- Kusuma, I.G.B.W., 2010, *Pengolahan Sampah Organik Menjadi Etanol dan Pengujian Sifat Fisika Biogasoline*. Universitas Udayana Press.
- Lubad, Aziz Masykur dan Widiastuti, Paramita. 2010. Program Nasional Biofuel dan Realitasnya di Indonesia. *Lembaran Publikasi Lemigas*. 44(3): 307-318.
- Madigan, M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clark D.P. 2012. *Biology of Microorganism*. 13<sup>th</sup> ed. San Francisco : Pearson. P.
- Maisaroh, Siti, Wijanarka, dan Agus Suprihadi. 2020. Kemampuan Memproduksi Inulinase Isolat Khamir Hasil Isolasi dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dengan Variasi Konsentrasi. *Journal of Tropical Biology*. 3(1); 1-7.
- Mardiyah, Siti. 2017. Pengaruh Lama Pemanasan Terhadap Kadar Alkohol Pada Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*). *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*. 1(2). 9-15.
- Megawati. 2015. *Bioetanol Generasi Kedua*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Meisela,E. 2016. Produksi bioetanol dari air kelapa kental dengan penambahan TWEEN80<sup>tm</sup> sebagai penurun tegangan permukaan. *Skripsi*. Fakultas pertanian. Universitas Riau.
- Mochklas, Mochammad, S. Hidajat dan N. Mauliddah, 2021. Pemberdayaan Potensi Desa Kebon Raya Paciran Lamongan di Era New Normal. *Jurnal Abdidas*. 2(1) :86-91.
- Munson, Bruce R., Donald F. Young, dan Theodore H. Okiishi. 2003. *Mekanika Fluida Edisi Keempat Jilid 1*. Jakarta : Erlangga.
- Najah, Ni'matun. 2009. Pengaruh Penambahan Nitrogen dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Etanol Pada Proses Fermentasi Kulit Pisang Ambon Kuning (*Musa paradisiaca*). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Yogyakarta.
- Nisansala, D., Piraveena G dan Kapilan R. 2021. Palmyra (*Borassus flabellifer*) Nature's Gift for Life. Jaffna : Aarani Publisher.

- Novelina, Soekarto, S. T., Jenie, Betty S. L., Saono, S., Suhartono, M.T. 2005. Pengeringan Kemoreaksi Kultur *Saccharomyces cerevisiae* dengan CaO serta Pengaruh Sorpsi Kadar Air Terhadap Stres dan Kematian Kultur Kering. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 16(1).
- Oktaniya, Fajar Restuhadi dan Rahmayuni. 2017. Hubungan antara kadar etanol, kadar gula reduksi dan jumlah sel dalam produksi bioetanol dari fermentasi air kelapa dengan penambahan pupuk NPK. *SAGU*. 16(1).
- Olson, Reuben M. dan Wright, Steve J. 1993. *Dasar-dasar Mekanika Fluida teknik Edisi Kelima*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- Pangestu, Edy. 2022. Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Urea terhadap Kadar dan Volume Bioetanol Substrat Limbah Buah Pisang. *Skripsi*. Program Studi Biologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Pelczar, Michael J. Dan Chan, E.C.S. 2013. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Jakarta: UI Press.
- Prabawa, A. A., E. H. Utomo, dan Abdullah. 2012. Produksi Enzim Invertase oleh *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan Substrat Gula dengan Sistem Fermentasi Cair. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 1(1).
- Prabowo, A. 2011. *Pengawetan Dedak Padi dengan Cara Fermentasi*. Sumsel : Litbang.
- Pranata, Dede Putra, Fajar Restuhadi dan Evy Rossi. 2017. Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah secara Semi Sinambung (*Fedbatch*) dengan Penambahan Urwa dan *Cordyceps mycellium*. *JOM FAPERTA*. 4(1).
- Pratiwi, Y.H., O. Ratnayani, dan I N. Wirajana. 2018. Perbandingan Metode Uji Gula Pereduksi Dalam Penentuan Aktivitas  $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase Dengan Substrat Janur Kelapa (*Cocos nucifera*). *Jurnal Kimia*. 12(2)
- Prescott, S.C. and C. Gordon. 1949. *Industrial Microbiology*. 2nd ed. Cambridge: Me. Graw-Hill Book Company, Inc.
- Poedjiadi , Anna. 2012. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta : UI Press.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta : Bumi Aksara.
- Qomariyah, Laily dan Christyfani Sindhuwati. 2021. Pengaruh Penambahan NPK dan Urea pada Pembuatan Etanol dari Air Tebu Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Teknologi Separasi*. 7(2): 82-88.
- Rahim, Dicka Ar. 2009. Produksi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus* dari Sirup Dekstrin Pati Sagu (*Metroxylon* sp.) Menggunakan Metode Aerasi Penuh dan Aerasi Dihentikan. *Skripsi*. Institut Teknologi Bogor. Bogor.
- Rahmah, Yulia, S. Bahri, Chairul. 2015. Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Penambahan Urea sebagai Sumber Nitrogen. *JOM FTEKNIK*. 2(2).
- Rahmawati, Aldila. 2021. Pengaruh Jumlah Penduduk, Jumlah Kendaraan Bermotor, PDRB Per Kapita dan Kebijakan Fiskal terhadap Konsumsi

- Energi Minyak di Indonesia. *Jurnal Pembangunan dan Pemerataan (JPP)*. 10(1):1-28.
- Rahmawati, A. S., & Erina, R. (2020). Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dengan Uji Anova Dua Jalur. *OPTIKA: Jurnal Pendidikan Fisika*, 4(1), 54-62.
- Riza, Muhammad. 2016. Pemanfaatan Limbah Kulit Ubi Kayu (*Manihot utilissima* Pohl) dan Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.) pada Produksi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger*. *The 3<sup>rd</sup> University Research Colloquium*.
- Riadi, Lieke. 2007. *Teknologi Fermentasi*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Rodin, D. 2017. Al-Qur'an dan Konservasi Lingkungan: Telaah Ayat-Ayat Ekologis. *At-Tahrir*. 17(2): 397-399.
- Sa'adah, A.F., A. Fauzi, dan B. Juanda. 2017. Peramalan Penyediaan dan Konsumsi Bahan Bakar Minyak dengan Model Sistem Dinamik. *Jurnal Ekonomi dan Pembangunan Indonesia*. 17(2): 118-137.
- Salsabila, U., D. Mardiana, dan E. Indahyanti. 2013. Kinetika Reaksi Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Pati Biji Durian menjadi Etanol. *Student Journal*. 2(1): 331-336.
- Sari, Iris Mustika, Noverita dan Yulneriwarni. 2008. Pemanfaatan jerami Padi dan Alang-Alang dalam Fermentasi Etanol Menggunakan Kapang *Trichoderma viride* dan Khamir *Saccharomyces cerevisiae*. *Vis Vitalis*. 1(2).
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al Mishbah : Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta : Lentera Hati.
- Sholikhah, Siti Mar'atus. 2010. Kajian Kadar Etanol Air Nira Siwalan dan Asam Asetat dalam Cairan Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Gas (GC). *Skripsi*. Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Silaban, Belli Martha Judika., dan Yuwono, Li Felix. 2017. Optimasi fermentasi produksi etanol dari nira siwalan menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia stipitis* dengan *Response Surface methodology*. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Simanjuntak, E., Chairul dan Sembiring, M.P. 2015. Pembuatan Bioetanol dari Nira Aren secara Fermentasi dengan Menggunakan Yeast *Saccharomyces cerevisiae* dengan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi. *JOM FTEKNIK*. 2(1).
- Solikhin, Nurjati, A.S.Prasetyo, L.Buchori. 2012. Pembuatan Bioetanol Hasil Hidrolisis Bonggol Pisang Dengan Fermentasi Menggunakan *Saccaromycess cereviceae*. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 1(1)
- Subrimobdi, Wahono Bambang, N.Carroko, Wahyudi. 2016. Studi Eksperimental Pengaruh Penggunaan *Saccharomyces Cerevisiae* Terhadap Tingkat Produksi Bioetanol Dengan Bahan Baku Nira Siwalan. *Jurnal Tugas Akhir UMY*. 2(2).

- Suharto, Muhammad., Wibowo, Agung Ari., Suharti, Profiyanti Hermien. 2020. Optimasi Pemurnian Etanol Dengan Distilasi Ekstraktif Menggunakan *Chemcad. DISTILAT (Jurnal Teknologi Separasi)*. 6(1).
- Sulistyaningrum, L. S.. 2008. Optimalisasi Fermentasi Asam Kojat Oleh Galur Mutan *Aspergillus flavus*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: UNESA Press
- Susmanto, Prahadi., Yandriani, B. Dania, dab Ellen. 2020. Pengaruh Nutrien dan Waktu terhadap Efisiensi Substrat dan Kinetika Reaksi Fermentasi dalam Produksi Bioetanol Berbahan Biji Durian. *Jurnal Integrasi Proses*. 9 : 01-08
- Suroyya, Mayang. 2016. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Nira Siwalan dengan Penambahan Ekstrak Biji Kelengkeng. *Skripsi*. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Suseno, Thomas. I. P., S. Surjoseputro, dan Anita K. 2000. Minuman Probiotik Nira Siwalan : Kajian Lama Penyimpanan terhadap Daya Anti Mikroba *Lactobacillus casei* pada Beberapa Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*. 1(1).
- Tambunan, Parlindungan. 2010. Potensi dan Kebijakan Pengembangan Lontar untuk Menambah Pendapatan Penduduk. *Jurnal Analisis Kebijakan Kehutanan*. 7(1).
- Ulum, Kafidul, Indria Purwatiningrum, Retno Dwi Yustina, Untung Murdiyatmo, dan Agustin Krisna Wardani. 2020. Studi Komparasi : Produksi Bioetanol Nira Batang Kelapa Sawit oleh Flokulan dan Non-Flokulan *Saccharomyces cerevisiae*. *Agritech*. 40(4) : 322-331.
- Umam, Muzid Syauqil. 2018. Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti *Saccharomyces cerevisiae* dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.). *Skripsi*. Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Utama, A.W., A.M. Legowo, dan A.N. Al-Baarri. 2013. Produksi Alkohol, Nilai pH, dan Produksi Gas pada Bioetanol dari Susu rusak dengan Campuran Limbah Cair Tapioka. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(2): 93-100.
- Wonorahardjo, Surjani. 2013. *Metode-metode Pemisahan Kimia*. Jakarta : Akademia Permata E.
- Wusnah, S. Bahri, D. Hartono. 2016. Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* B.C) Secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 5(1).
- Zaini, Muhammad. 2018. Alam Semesta Menurut Al-Qur'an. *Tafse: Journal of Qur'anic Studies*. 2(1): 42- 43.

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Data Hasil Kadar Etanol

Perlakuan	Ulangan Ke-			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
T1U0	7,2	6,8	6,6	20,6	6,9
T1U1	7,2	7,0	6,4	20,6	6,9
T1U2	8,8	8,6	8,4	25,8	8,6
T1U3	13,0	13,4	12,8	39,2	13,1
T2U0	5,8	5,4	5,0	16,2	5,4
T2U1	6,4	6,2	5,8	18,4	6,1
T2U2	6,4	6,8	7,0	20,2	6,7
T2U3	6,4	5,6	5,8	17,8	5,9
T3U0	5,6	5,2	5,8	16,6	5,5
T3U1	6,4	6,0	5,8	18,2	6,1
T3U2	11,4	12,0	11,8	35,2	11,7
T3U3	9,8	8,8	9,4	28,0	9,3

**Lampiran 2.** Data Hasil Derajat Keasaman (pH)

Perlakuan	Ulangan Ke-			Total	Rata-rata
	1	2	3		
T1U0	4,6	5,8	4,6	15	5
T1U1	4,2	4,2	5,7	14,1	4,7
T1U2	5,3	4,1	4,4	13,8	4,6
T1U3	4,1	5,7	5,0	14,8	4,9
T2U0	2,3	2,4	2,4	7,1	2,4
T2U1	2,2	2,3	2,3	6,8	2,3
T2U2	2,3	2,3	2,3	6,9	2,3
T2U3	2,3	2,3	2,3	6,9	2,3
T3U0	2,4	2,5	2,5	7,4	2,5
T3U1	2,7	2,8	2,5	8	2,7
T3U2	2,6	2,6	2,6	7,8	2,6
T3U3	2,6	2,5	2,6	7,7	2,6

**Lampiran 3.** Hasil analisis statistik (*Two way anova*) dan uji lanjut DMRT pengaruh kombinasi lama fermentasi dan penambahan urea terhadap kadar etanol

1. Uji normalitas data kadar etanol

<b>Tests of Normality</b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for KADAR_ETANOL	.127	36	.151	.944	36	.068

2. Uji homogenitas data kadar etanol

<b>Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a,b</sup></b>					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
KADAR_ETANOL	Based on Mean	.456	11	24	.912
	Based on Median	.145	11	24	.999
	Based on Median and with adjusted df	.145	11	19.231	.999
	Based on trimmed mean	.427	11	24	.928

3. Analisis statistik kadar etanol

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: KADAR\_ETANOL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	200.747 <sup>a</sup>	11	18.250	149.316	.000
Intercept	2152.960	1	2152.960	17615.127	.000
T	46.047	2	23.023	188.373	.000
U	70.018	3	23.339	190.958	.000

T * U	84.682	6	14.114	115.476	.000
Error	2.933	24	.122		
Total	2356.640	36			
Corrected Total	203.680	35			

a. R Squared = ,986 (Adjusted R Squared = ,979)

#### 4. Uji lanjut DMRT

#### KADAR\_ETANOL

Duncan<sup>a,b</sup>

Kombinasi _Perlakuan	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
T3U0	3	5.533					
T2U2	3	5.933					
T2U3	3	5.933					
T3U1	3	6.067					
T2U0	3	6.133					
T2U1	3		6.733				
T1U0	3		6.867				
T1U1	3		6.867				
T1U2	3			8.600			
T3U3	3				9.333		
T3U2	3					11.733	
T1U3	3						13.067
Sig.		.070	.664	1.000	1.000	1.000	1.000



## 5. Uji normalitas data nilai pH substrat fermentasi

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for PH	.297	36	.000	.828	36	.000

a. Lilliefors Significance Correction

#### Lampiran 4. Perhitungan kadar bioetanol berdasarkan gravitasi jenis sampel menggunakan piknometer

Kadar bioetanol sampel dengan perlakuan lama fermentasi 48 jam dan penambahan urea 0,6 gram pada ulangan 1

Diketahui :

Massa piknometer kosong 1 ( $M_1$ ) : 23,09 gram

Massa piknometer berisi aquades ( $M_{\text{aquades}}$ ) : 47,73 gram

Massa piknometer kosong 2 ( $M_2$ ) : 23,12 gram

Massa piknometer berisi sampel ( $M_{\text{sampel}}$ ) : 47,33 gram











Selanjutnya, hasil tersebut dimasukkan dalam rumus Gravitasi Jenis :

$$\begin{aligned} \text{Gravitasi jenis} \\ \text{Specific Gravity} \\ \text{(SG)} &= \frac{(M_{\text{sampel}} - M_2)}{(M_{\text{aquades}} - M_1)} \\ &= \frac{(47,33 - 23,12)}{(47,73 - 23,09)} \\ &= \frac{24,21}{24,64} \\ &= 0,982548 \end{aligned}$$

Berikut gambar penkonversian hasil perhitungan kadar bioetanol diatas kedalam tabel Bhavan dan Marg (2005) :

Temperature °C	Percentages of Volume at 20°C									
	12.0	12.2	12.4	12.6	12.8	13.0	13.2	13.4	13.6	13.8
10	0.984 67	0.984 46	0.984 25	0.984 05	0.983 84	0.983 63	0.983 43	0.983 23	0.983 02	0.982 82
11	0.984 62	0.984 41	0.984 20	0.983 99	0.983 78	0.983 57	0.983 36	0.983 16	0.982 95	0.982 75
12	0.984 57	0.984 36	0.984 14	0.983 93	0.983 71	0.983 50	0.983 29	0.983 08	0.982 88	0.982 67
13	0.984 50	0.984 29	0.984 07	0.983 86	0.983 64	0.983 43	0.983 22	0.983 01	0.982 80	0.982 59
14	0.984 44	0.984 22	0.984 01	0.983 79	0.983 58	0.983 36	0.983 15	0.982 94	0.982 72	0.982 51
15	0.984 39	0.984 17	0.983 95	0.983 73	0.983 51	0.983 29	0.983 08	0.982 86	0.982 65	0.982 43
16	0.984 34	0.984 12	0.983 89	0.983 67	0.983 44	0.983 22	0.983 00	0.982 79	0.982 57	0.982 36
17	0.984 27	0.984 05	0.983 83	0.983 60	0.983 38	0.983 16	0.982 94	0.982 72	0.982 50	0.982 28
18	0.984 22	0.984 00	0.983 77	0.983 55	0.983 32	0.983 10	0.982 88	0.982 66	0.982 43	0.982 21
19	0.984 17	0.983 94	0.983 71	0.983 49	0.983 26	0.983 03	0.982 81	0.982 58	0.982 36	0.982 13
20	0.984 10	0.983 87	0.983 64	0.983 42	0.983 19	0.982 96	0.982 73	0.982 51	0.982 28	0.982 06
21	0.984 05	0.983 82	0.983 59	0.983 36	0.983 13	0.982 90	0.982 67	0.982 44	0.982 21	0.981 98
22	0.984 00	0.983 76	0.983 53	0.983 29	0.983 06	0.982 82	0.982 59	0.982 36	0.982 13	0.981 90
23	0.983 93	0.983 70	0.983 46	0.983 23	0.982 99	0.982 76	0.982 53	0.982 30	0.982 06	0.981 83
24	0.983 89	0.983 65	0.983 41	0.983 18	0.982 94	0.982 70	0.982 46	0.982 23	0.981 99	0.981 76
25	0.983 83	0.983 59	0.983 35	0.983 11	0.982 87	0.982 63	0.982 39	0.982 16	0.981 92	0.981 69
26	0.983 77	0.983 53	0.983 29	0.983 05	0.982 81	0.982 57	0.982 33	0.982 09	0.981 85	0.981 61
27	0.983 72	0.983 48	0.983 23	0.982 99	0.982 74	0.982 50	0.982 26	0.982 02	0.981 78	0.981 54
28	0.983 66	0.983 42	0.983 17	0.982 93	0.982 68	0.982 44	0.982 20	0.981 95	0.981 71	0.981 46
29	0.983 61	0.983 36	0.983 11	0.982 87	0.982 62	0.982 37	0.982 12	0.981 88	0.981 63	0.981 39
30	0.983 54	0.983 29	0.983 04	0.982 79	0.982 54	0.982 29	0.982 04	0.981 80	0.981 55	0.981 31

**Lampiran 5. Dokumentasi penelitian**

 <p>Sampel limbah nira siwalan</p>	 <p>Proses fermentasi</p>
 <p>Proses penimbangan ragi roti</p>	 <p>pH meter</p>
 <p>Penimbangan urea 0,2 gram</p>	 <p>Penimbangan urea 0,4 gram</p>
 <p>Penimbangan urea 0,6 gram</p>	 <p>Plastisin</p>
 <p>Proses pengukuran pH</p>	 <p>Piknometer 25 ml</p>



Penimbangan piknometer



Proses distilasi



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Nur Khofifatul Utami  
NIM : 18620058  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Genap TA 2022/2023  
Pembimbing : Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P.  
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Urea terhadap Kadar Bioetanol Bioetanol Substrat Limbah Nira Siwalan

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	08/03/2022	Konsultasi topik penelitian	
2.	13/06/2022	Konsultasi BAB I	
3.	08/09/2022	Konsultasi BAB I, II, III	
4.	08/09/2022	Acc proposal skripsi	
5.	29/06/2023	Konsultasi Hasil Penelitian	
6.	07/06/2023	Acc Naskah Skripsi	
7.			
8.			
9.			
10.			

Pembimbing Skripsi I

Ir. Hj. Liliek Harianie A.R., M.P.  
NIP. 19620901 199803 2 001



Malang, 8 Juni 2023  
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.  
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Nur Khofifatul Utami  
NIM : 18620058  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil TA2022/2023  
Pembimbing : Dr. M. Imamuddin, M. A  
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Urea terhadap Kadar Bioetanol Substrat Limbah Nira Siwalan

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	09/06/2022	Konsultasi integrasi BAB I	
2.	05/07/2022	Konsultasi integrasi BAB I, II dan III	
3.	09/09/2022	Acc proposal skripsi	
4.	06/06/2023	Konsultasi Abstrak, BAB I, II, III ,dan IV	
5.	07/06/2023	ACC naskah skripsi	
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

Pembimbing Skripsi II

Dr. M. Imamudin, M. A  
NIP. 19740602 200901 1 010

Malang, 8 Juni 2023  
Ketua Program Studi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002






**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**Form Checklist Plagiasi**

**Nama** : Nur Khofifatul Utami  
**NIM** : 18620058  
**Judul** : Pengaruh Lama Fermentasi dan Penambahan Urea terhadap Kadar Bioetanol  
 Substrat Limbah Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	197	
4	Dr. Maharani Retna Duhita, M.Sc.,  PhD. Med. Sc		



Mengetahui,  
 Ketua Program Studi Biologi

**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P**  
 NIP. 19741018 200312 2 002