

**PRODUKSI BIOETANOL LIMBAH SABUT KELAPA MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE *Aspergillus niger* DAN RAGI ROTI DENGAN
METODE *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION*
(SSF)**

SKRIPSI

**Oleh:
MUHAMMAD ZAQIDAFITRA AKBAR
NIM. 210602110105**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**PRODUKSI BIOETANOL LIMBAH SABUT KELAPA MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE *Aspergillus niger* DAN RAGI ROTI DENGAN
METODE *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION*
(SSF)**

SKRIPSI

**Oleh:
MUHAMMAD ZAQIDAFITRA AKBAR
NIM. 210602110105**

**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
2025**

**PRODUKSI BIOETANOL LIMBAH SABUT KELAPA MENGGUNAKAN
ENZIM SELULASE *Aspergillus niger* DAN RAGI ROTI DENGAN
METODE *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION*
(SSF)**

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ZAQIDAFITRA AKBAR
NIM. 210602110105

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
pada tanggal: 18 Juni 2025

Pembimbing I



Prilya Dewi Fitriasari M. Sc
NIP. 19900428 202321 2 037

Pembimbing II



Muhammad Asmuni Hasyim M. Si
NIP. 19870522 202321 1 016

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P



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

**PRODUKSI BIOETANOL LIMBAH SABUT KELAPA
MENGUNAKAN ENZIM SELULASE *Aspergillus niger* DAN RAGI
ROTI DENGAN METODE *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION
FERMENTATION (SSF)***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD ZAQIDAFITRA AKBAR
NIM. 210602110105

Telah dipertahankan
Di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

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



(.....)

Anggota Penguji I : Ir. Liliek Harianie, M. P.
NIP. 19620901 199803 2 001



(.....)

Anggota Penguji II : Prilya Dewi Fitriasari, M. Sc
NIP. 19900428 202321 2 037



(.....)

Anggota Penguji III : Muhammad Asmuni Hasyim M.Si
NIP. 19870522 202321 1 016



(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji dan syukur dipanjatkan kepada Allah SWT atas kemurahan dan ridho-Nya, skripsi ini yang berjudul “Produksi Bioetanol Limbah Sabut Kelapa menggunakan Enzim Selulase *Aspergillus niger* dan Ragi Roti dengan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) ” dapat terselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya. Sholawat dan salam juga penulis sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW sebagai panutan yang penuh dengan kemuliaan, memberi motivasi tentang kehidupan, serta mengajari melalui sunnah-sunnahnya. Skripsi ini saya persembahkan untuk diri saya sendiri yang telah berjuang dengan keras selama ini, terimakasih atas kerja kerasnya, dan rasa pantang menyerah itu. Namun, dalam proses penyusunan skripsi ini juga tidak terlepas dari bantuan beberapa pihak sehingga dengan kerendahan hati dan rasa syukur, penulis mempersembahkan skripsi ini dan mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua yang tersayang Bapak Cecep Irianto dan Ibu Tutik Lestari yang senantiasa memberikan motivasi, semangat dan doa untuk penulis sehingga diberikan kemudahan dan kelancaran dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Saudara saya Mas Reza, dan Dek Faqih yang selalu memberikan semangat dan dukungan, serta meyakinkan bahwa saya mampu menyelesaikan apa yang telah saya mulai.
3. Ibu Prilya Dewi Fitriyani M.Sc selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan ilmu untuk membimbing penulis selama penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Muhammad Asmuni Hasyim M.Si selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan Islam.
5. Ibu Ruri Siti Resmisari, M.Si selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasihat kepada penulis selama masa studi.
6. Teman seperjuangan yang saling menyemangati satu sama lain, memberikan informasi, motivasi, membantu, serta selalu ada dalam keadaan susah maupun senang, diantaranya rekan PAMPAMPUH (Fathan, Wira, Azam, Zaka, Arjun, Naufal, Resha, Sholah) dan AREK DEWE AREK (Krisna, Farhan, Adam). Semoga kesuksesan menanti kita di masa depan.
7. Rekan satu laboratorium mikrobiologi se-perbimbingan yang telah berjuang bersama dan saling bertukar pikiran yaitu Deny, Arya, Fella, Elok, dll.
8. Mahasiswi bernama Fanyesia Margareta Haryono dari Fakultas Ilmu Administrasi Kampus UB yang senantiasa selalu ada disamping penulis untuk mendampingi dan membantu penulis
9. Angkatan Newcleus khususnya kelas D 2021 dan rekan seperjuangan yang telah memberikan warna setiap harinya selama saya menjalani masa studi, memberikan bantuan, saling memberikan semangat, dan juga menjadi teman perjuangan yang setara. Semoga tali kekeluargaan tetap terjalin di antara kita semua.

Sekali lagi, penulis ucapkan terimakasih kepada semua pihak yang terlibat. Besar harapan skripsi ini dapat berguna di masa yang akan datang sebagai sumber inspirasi pada bidang pengetahuan terkait. Aamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

MOTTO

“Orang-orang yang sabar, dan mengerjakan amal-amal saleh; mereka itu beroleh ampunan dan pahala yang besar”

(QS. Hud [11]:11).

“Your work is going to fill a large part of your life, and the only way to be truly satisfied is to do what you believe is great work”

- Steve Jobs

“Teruslah berjuang, dan berikan yang terbaik untuk orang yang kamu sayangi”

- Zaqi

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Zaqidafitra Akbar

NIM : 210602110105

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Produksi Bioetanol Limbah Sabut Kelapa menggunakan Enzim
Selulase *Aspergillus niger* dan Ragi Roti dengan Metode
Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan 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 akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 18 Juni 2025

Yang Membuat Pernyataan

A handwritten signature in black ink is written over a red and green 10,000 Rupiah stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA', '10000', and 'SERI SAM X T 38 109026'.

Muhammad Zaqidafitra Akbar

NIM. 210602110105

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk di catat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus di sertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

PRODUKSI BIOETANOL LIMBAH SABUT KELAPA MENGGUNAKAN ENZIM SELULASE *Aspergillus niger* DAN RAGI ROTI DENGAN METODE *SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION* (SSF)

Muhammad Zaqidafitra Akbar, Prilya Dewi Fitria Sari, Muhammad Asmuni Hasyim

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

ABSTRAK

Bahan bakar fosil merupakan bahan bakar yang tidak ramah lingkungan, tidak terbarukan, dan persediaannya terbatas. Jika terus digunakan, dapat mengakibatkan krisis energi karena pasokan dan permintaan yang tidak seimbang. Oleh karena itu, bioetanol sebagai sumber energi alternatif yang terbarukan dan ramah lingkungan menjadi sangat penting. Sabut kelapa dapat dijadikan bahan dasar pembuatan bioetanol karena memiliki kandungan selulosa yang tinggi, jumlahnya yang melimpah, dan memiliki potensi ekonomis. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji produksi bioetanol limbah sabut kelapa dengan melibatkan proses hidrolisis dan fermentasi menggunakan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan enzim selulase kasar *Aspergillus niger* dalam berbagai variasi konsentrasi. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yaitu konsentrasi ragi dan konsentrasi enzim selulase kasar. Prosedur penelitian meliputi *pretreatment* bahan sabut kelapa melalui proses delignifikasi dan *bleaching*, uji selulolitik dan produksi enzim selulase dari kapang *Aspergillus niger*; uji aktivitas enzim, fermentasi secara *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dan distilasi untuk menghasilkan bioetanol. Hasil analisis nilai menggunakan aplikasi SPSS 23 menggunakan ANOVA ($P < 0,05$) dan DMRT 5% menunjukkan bahwa kadar etanol tertinggi didapatkan dari interaksi perlakuan konsentrasi ragi 7 gram (b/v) dan konsentrasi enzim 10 ml (v/v) dengan kadar etanol tertinggi sebesar 27,6%. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengoptimalkan produksi bioetanol dari limbah sabut kelapa dan memberikan solusi inovatif dalam pemanfaatan limbah organik sebagai energi terbarukan yang ramah lingkungan.

Kata Kunci: Enzim Selulase, Fermentasi, Kadar Etanol, Ragi Roti, Sabut Kelapa

**BIOETHANOL PRODUCTION FROM COCONUT HUSK WASTE USING
Aspergillus niger CELLULASE ENZYME AND BAKER'S YEAST
THROUGH SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION AND
FERMENTATION (SSF) METHOD**

Muhammad Zaqidafitra Akbar, Prilya Dewi Fitria Sari, Muhammad Asmuni Hasyim

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

ABSTRACT

Fossil fuels are non-renewable, environmentally unfriendly energy sources with limited availability. Continued reliance on these fuels may lead to an energy crisis due to the imbalance between supply and demand. Therefore, bioethanol has become increasingly important as a renewable and environmentally friendly alternative energy source. Coconut husk is a promising raw material for bioethanol production due to its high cellulose content, abundant availability, and economic potential. This study aims to investigate the production of bioethanol from coconut husk waste through hydrolysis and fermentation processes using baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and crude cellulase enzymes from *Aspergillus niger* at varying concentrations. The experimental design employed a Completely Randomized Design (CRD) with two factors: yeast concentration and crude cellulase enzyme concentration. The research procedures included pretreatment of coconut husk through delignification and bleaching, cellulolytic activity testing and crude cellulase enzyme production from *Aspergillus niger*, enzyme activity assay, Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF), and distillation to obtain bioethanol. Data were analyzed using SPSS 23 software with ANOVA ($P < 0.05$) and DMRT at 5%. The results showed that the highest ethanol yield was obtained from the interaction of 7 g (b/v) yeast concentration and 10 ml (v/v) enzyme concentration, producing an ethanol content of 27.6%. This study is expected to optimize bioethanol production from coconut husk waste and provide an innovative solution for utilizing organic waste as a renewable and environmentally friendly energy source.

Keywords: Cellulase Enzyme, Fermentation, Ethanol Content, Baker's Yeast, Coconut Husk

Aspergillus إنتاج الإيثانول الحيوي من نفايات قشور جوز الهند باستخدام إنزيم السليولاز من (SSF) وخميرة الخبز بطريقة التسكر والتخمير المتزامن *niger*

محمد زقيدافترا أكبر، بريليا دوي فيتريا ساري، محمد أسمني هاشيم

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

المُلخَص

تُعَدُّ الوقودات الأحفورية مصادر طاقة غير صديقة للبيئة، وغير متجددة، ومحدودة المخزون. واستمرار استخدامها قد يؤدي إلى أزمة طاقة نتيجة لعدم التوازن بين العرض والطلب. لذلك، فإن تطوير الإيثانول الحيوي كمصدر بديل للطاقة المتجددة والصديقة للبيئة يُعَدُّ أمرًا بالغ الأهمية. ويُعَدُّ ليف جوز الهند مادة خامة مناسبة لإنتاج الإيثانول الحيوي نظرًا لاحتوائه على نسبة عالية من السليولوز، وتوفره بكميات كبيرة، وامتلاكه قيمة اقتصادية واعدة. يهدف هذا البحث إلى دراسة إنتاج الإيثانول الحيوي من نفايات ليف جوز الهند من خلال عمليات التحلل المائي والتخمير وإنزيم السليولاز الخام المستخلص من فطر (*Saccharomyces cerevisiae*) باستخدام خميرة الخبز مع استخدام تراكيز وكميات مختلفة. استخدم تصميم البحث المخطط العشوائي الكامل، *Aspergillus niger*، بعاملين، هما: اختلاف كمية الخميرة وحجم الإنزيم المستخدم. اشتملت خطوات البحث على المعالجة المسبقة لليف جوز الهند من خلال عمليات إزالة اللجنين والتبييض، واختبار قدرة التحليل السليولوزي، وإنتاج إنزيم السليولاز (SSF)، واختبار نشاط الإنزيم، والتخمير بطريقة التحلل والتخمير المتزامن، *Aspergillus niger* من فطر وفق اختبار SPSS 23 والتقطير للحصول على الإيثانول الحيوي. أظهرت نتائج التحليل باستخدام برنامج بنسبة 5% أن أعلى نسبة إيثانول تم الحصول عليها كانت DMRT واختبار ANOVA ($P < 0.05$) نتيجة لتفاعل معالجة تحتوي على 7 غرامات من الخميرة و10 مل من الإنزيم، حيث بلغت نسبة الإيثانول ومن المتوقع أن تسهم نتائج هذا البحث في تحسين إنتاج الإيثانول الحيوي من نفايات ليف جوز الهند. 27.6% وتقديم حل ابتكاري في استغلال النفايات العضوية كمصدر متجدد وصديق للبيئة للطاقة

الكلمات الرئيسية: كمية خميرة الخبز، حجم إنزيم السليولاز، ليف جوز الهند، نسبة الإيثانول

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah menganugrahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul ” Produksi Bioetanol Limbah Sabut Kelapa menggunakan Enzim Selulase *Aspergillus niger* dan Ragi Roti dengan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF)”. Tidak lupa shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan agama Islam yang terpatri hingga akhir zaman. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu menyelesaikan skripsi ini, terkhusus kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Prof. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Prof. Dr. Evika Sandi Savitri M.P selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sain dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan arahan, dukungan, serta bimbingan dengan penuh ketelitian dan kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si selaku dosen pembimbing integrasi keilmuan sains dan Islam, atas segala ilmu dan bimbingannya yang sangat bermanfaat.
6. Ibu Ruri Siti Resmisari, M.Si selaku dosen wali yang telah mendampingi penulis sejak awal masa perkuliahan hingga akhir.
7. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengampu mata kuliah yang sejauh ini telah mengajarkan saya berbagai ilmu, pengalaman, dan wawasan.
8. Kepada kedua orang tua tercinta, atas segala doa, motivasi, dan dukungan moril maupun materil yang senantiasa mengiringi langkah penulis.
9. Seluruh teman-teman yang telah memotivasi dan membantu saya dalam penyelesaian penelitian ini.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, namun telah memberikan bantuan dan kontribusi dalam penyelesaian karya ini.

Semoga segala kebaikan yang diberikan oleh beberapa pihak tersebut kepada penulis mendapatkan balasan kebaikan dari Allah SWT. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca.

Malang, Mei 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
المُلخَص	xi
KATA PENGANTAR.....	xii
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	9
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis	10
1.5 Manfaat.....	10
1.6 Batasan Masalah.....	11
BAB II	12
2.1 Pemanfaatan Limbah dalam Perspektif Islam	12
2.2 Bioetanol	15
2.3 Biomassa Lignoselulosa	17
2.3.1 Selulosa.....	18
2.3.2 Hemiselulosa.....	18
2.3.3 Lignin.....	19
2.4 Sabut Kelapa.....	21
2.5 Kapang <i>Aspergillus niger</i>	23
2.5.1 Klasifikasi <i>Aspergillus niger</i>	23
2.5.2 Ekologi dan Morfologi <i>Aspergillus niger</i>	24
2.6 Enzim Selulase	25
2.6.1 Struktur dan Mekanisme Enzim Selulase	25
2.6.2 Uji Aktivitas Enzim Selulase	27

2.7 Ragi Roti.....	27
2.8 Fermentasi Bioetanol.....	29
2.9 Distilasi Bioetanol	34
BAB III.....	35
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	35
3.2 Alat dan Bahan	35
3.2.1 Alat.....	35
3.2.2 Bahan	35
3.3 Rancangan Penelitian	36
3.4 Prosedur Penelitian.....	37
3.4.1 Persiapan dan Delignifikasi Sabut Kelapa.....	37
3.4.2 Penyiapan Kultur <i>Aspergillus niger</i>	38
3.4.3 Uji Aktivitas Selulolitik Kapang <i>Aspergillus niger</i>	39
3.4.4 Produksi Enzim Selulase Kasar <i>Aspergillus niger</i>	40
3.4.5 Ekstraksi Enzim Selulase Kasar <i>Aspergillus niger</i>	41
3.4.6 Uji Aktivitas Enzim Selulase	41
3.4.7 Proses <i>Simultaneous Saccharification Fermentation</i> (SSF).....	43
3.4.8 Distilasi Larutan Hasil Fermentasi	43
3.4.9 Pengukuran Kadar Etanol dengan Metode Berat Jenis menggunakan Piknometer.....	44
3.4.10 Analisis Data	45
BAB IV	46
4.1 Pengaruh Konsentrasi Enzim Selulase terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa.....	46
4.2 Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa.....	53
4.3 Pengaruh Interaksi antara Konsentrasi Ragi Roti (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) dan Konsentrasi Enzim Selulase terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa.....	58
4.4 Integrasi Sains dan Islam.....	65
BAB V.....	69
5.1 Kesimpulan.....	69
5.2 Saran	70
DAFTAR PUSTAKA.....	71
LAMPIRAN.....	80

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.2 Sifat Fisik Etanol.....	15
2.4.1 Komposisi Kimiawi Lignoselulosa dalam Sabut Kelapa.....	22
2.4.2 Komposisi Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin pada Berbagai Kulit Buah	23
2.6.2 Konsentrasi Larutan Glukosa pada Pembuatan Standart Glukosa.....	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.3 Struktur Lignoselulosa	17
2.3.1 Struktur Selulosa	18
2.3.2 Struktur Hemiselulosa	19
2.3.3.1 Struktur Lignin	20
2.3.3.2 Efek Praperlakuan untuk Penghilangan Lignin.....	20
2.4 Sabut Kelapa Tua	22
2.5.2 Morfologi <i>Aspergillus niger</i>	25
2.6.1 Mekanisme Enzim Selulosa dalam Menghidrolisis Substrat Selulosa	26
2.8 Mekanisme glikolisis jalur Embden Meyerhof- Parnas Pathway	30
4.1.1 Grafik Pengaruh Konsentrasi Enzim Selulase terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa	46
4.1.2 Isolat <i>Aspergillus niger</i> pada Media CMC Agar yang Menampilkan Zona Bening	49
4.2 Grafik Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa.....	54
4.3.1 Grafik Pengaruh Interaksi antara Konsentrasi Ragi Roti (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) dan Konsentrasi Enzim Selulase terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa	59
4.3.2 Perubahan Warna pada Sabut Kelapa.....	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian.....	80
Lampiran 2. Uji Kemampuan Selulolitik <i>Aspergillus niger</i>	83
Lampiran 3. Aktivitas Enzim Selulase	84
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Bioetanol Berdasarkan Nilai Gravitasi Jenis Sampel Menggunakan Piknometer	87
Lampiran 5. Data Gravitasi Jenis Sampel.....	88
Lampiran 6. Data Kadar Bioetanol	89
Lampiran 7. Hasil Analisis Statistik Menggunakan SPSS.....	90

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Energi memainkan peran vital dalam kehidupan manusia karena hampir semua aktivitas membutuhkan energi. Masyarakat di Indonesia masih menggunakan minyak bumi sebagai sumber energi utamanya. Beragam aktivitas sehari-hari sangat bergantung pada produk-produk yang dihasilkan dari minyak bumi, seperti LPG, bensin, avtur, bahan bakar diesel, minyak pelumas, aspal, kerosin, dan lainnya (Rahmayanti dkk., 2021). Minyak dan gas bumi merupakan Sumber Daya Alam (SDA) yang tidak dapat diperbarui. Meski memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan bekerja dengan efisiensi yang baik, mengandalkan minyak dan gas bumi sebagai sumber energi utama untuk pembangunan jangka panjang bukanlah solusi yang tepat.

Menurut Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM) tahun 2021, menyatakan bahwa cadangan minyak bumi nasional sebesar 4,17 miliar barel dengan cadangan terbukti (*proven*) sebanyak 2,44 miliar barel. Sementara data cadangan yang belum terbukti sebesar 2,44 miliar barel. Cadangan gas bumi mencapai 62,4 triliun kaki kubik (*cubic feet*) dengan cadangan terbukti 43,6 triliun kaki kubik (*cubic feet*). Berdasarkan data tersebut Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM) memperkirakan cadangan minyak bumi di Indonesia hanya tersedia untuk 9,5 tahun dan gas bumi untuk 19,9 tahun dengan asumsi tidak ada penemuan baru cadangan minyak dan gas bumi.

Mengingat minyak dan gas bumi adalah sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui, maka sudah menjadi kewajiban manusia untuk menggunakan

dengan bijak serta melestarikan sumber daya alam tersebut agar dapat digunakan secara berkepanjangan untuk masa depan. Dalam Al-Qur'an, Allah SWT telah mengisyaratkan manusia sebagai *khalifah* di Bumi untuk menggunakan sumber daya alam yang diberikan oleh Allah SWT dengan sebaik baiknya agar tidak terjadi kerusakan lingkungan dan bencana. Hal ini sesuai dengan Firman Allah SWT pada Surah Al-Baqarah ayat 155-156 yang berbunyi:

وَلَنَبْلُوَنَّكُمْ بِشَيْءٍ مِّنَ الْخَوْفِ وَالْجُوعِ وَنَقْصٍ مِّنَ الْأَمْوَالِ وَالْأَنْفُسِ وَالثَّمَرَاتِ ۗ وَبَشِّرِ الصَّابِرِينَ ﴿١٥٥﴾
الَّذِينَ إِذَا أَصَابَتْهُمُ مُصِيبَةٌ قَالُوا إِنَّا لِلَّهِ وَإِنَّا إِلَيْهِ رَاجِعُونَ ﴿١٥٦﴾

Artinya: “Dan Kami pasti akan menguji kamu dengan sedikit ketakutan, kelaparan, kekurangan harta, jiwa, dan buah-buahan. Dan sampaikanlah kabar gembira kepada orang-orang yang sabar, (yaitu) orang-orang yang apabila ditimpa musibah, mereka berkata “*Innā lillāhi wa inna ilaihi rāji‘ūn*” (sesungguhnya kami milik Allah dan kepada-Nyalah kami kembali)”. (QS Al-Baqarah [2]: 155-156).

Menurut Lajnah Pentashih Mushaf Al-Qur'an Departemen Agama RI (2009), Frase dalam ayat tersebut yang menyatakan bahwa musibah berupa kelaparan (وَالْجُوعِ), kekurangan harta (وَنَقْصٍ مِّنَ الْأَمْوَالِ), jiwa (وَالْأَنْفُسِ), dan buah-buahan (وَالثَّمَرَاتِ). Sedangkan di antara faktor penyebabnya, tentu bukan satu-satunya sebab, namun dikarenakan adanya degradasi kualitas lingkungan hidup. Seperti yang disampaikan oleh pakar bahwa: jumlah penduduk bumi yang melebihi kapasitas bumi akan mengolah siklus guna tetap menjaga keseimbangannya. Karena setiap manusia membutuhkan makan, ruang, dan energi alam untuk menyangga hidupnya.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa apabila jumlah penduduk bumi tidak terkendali, maka bumi akan mereduksi jumlah manusia dengan adanya bencana kelaparan, konflik perebutan sumber daya, dan penyakit. Kebutuhan energi yang tinggi menyebabkan eksploitasi besar-besaran ke sumber energi seperti bahan bakar minyak dan gas bumi. Minyak dan gas bumi yang berasal dari fosil merupakan

sumber energi yang tidak ramah lingkungan, tidak terbarukan, serta memiliki ketersediaan yang terbatas di alam. Jika terus berlanjut, hal ini dapat menyebabkan krisis energi akibat ketidakseimbangan antara pasokan dan permintaan. Dengan demikian, studi mengenai sumber energi alternatif yang bersifat terbarukan, ramah lingkungan, dan berlimpah di alam menjadi sangat krusial. Bioetanol merupakan salah satu jenis energi alternatif yang memiliki potensi besar untuk diteliti dan dikembangkan lebih lanjut.

Bioetanol merupakan salah satu sumber bahan bakar alternatif yang memiliki keunggulan mampu menurunkan emisi CO₂ hingga 18 % dibandingkan dengan emisi bahan bakar fosil seperti minyak tanah (Wusnah dkk., 2020). Bioetanol dapat dimanfaatkan sebagai pengganti bahan bakar minyak tergantung dengan tingkat kemurniannya. Bioetanol dengan kadar 95-99% dapat dipakai sebagai bahan substitusi premium (bensin), sedangkan kadar 40% dipakai sebagai bahan substitusi minyak tanah (Widyastuti., 2019).

Bioetanol dihasilkan dari berbagai jenis tumbuhan yang umumnya sering ditemukan. Proses pembuatan etanol melibatkan fermentasi bahan biomassa, seperti tumbuhan yang mengandung pati, gula, dan selulosa. (Prihandana., 2007). Menurut Balai Besar Teknologi Pati (B2TP) ada 3 kelompok tanaman sumber bioetanol: tanaman yang mengandung pati (seperti singkong, kelapa sawit, tengkawang, kelapa, kapuk, jarak pagar, rambutan, sirsak, malapari, dan nyamplung), bergula (seperti tetes tebu atau molase, nira aren, nira tebu, dan nira surgum manis) dan serat selulosa (seperti batang sorgum, batang pisang, jerami, kayu, dan bagas). Secara konvensional, bioetanol diproduksi dari bahan baku yang kaya akan gula dan pati, seperti komoditas pertanian yang juga berfungsi sebagai

sumber pangan. Pendekatan ini dikenal sebagai produksi bioetanol generasi pertama. Namun, penggunaannya menimbulkan potensi konflik antara kebutuhan energi dan ketahanan pangan. Sebagai solusi, perhatian ilmiah kini beralih pada bioetanol generasi kedua yang memanfaatkan biomassa lignoselulosa dari sisa-sisa pertanian dan limbah organik lainnya, termasuk ampas tebu, jerami, batang tanaman, daun, serta biji-bijian (Sharma & Sharma., 2018). Biomassa lignoselulosa dipandang sebagai bahan baku yang menjanjikan untuk produksi bioetanol karena memiliki ketersediaan yang melimpah, dapat diperoleh secara berkelanjutan, dan menawarkan biaya yang relatif rendah (Kikas *et al.*, 2017).

Salah satu jenis biomassa lignoselulosa yang dapat digunakan dalam proses pembuatan bioetanol adalah limbah sabut kelapa. Ketersediaan limbah sabut kelapa di Indonesia cukup besar, menurut data dari Direktorat Jendral Perkebunan., (2021), produksi kelapa di Jawa Timur tahun 2020 mencapai 2.811.954 ton dengan luasan areal di Indonesia mencapai 3.396.776 ha. Data dari Badan Pusat Statistik Provinsi Jawa Timur., (2023) menunjukkan bahwa luas area tanaman perkebunan kelapa di Jawa Timur pada tahun 2021 mencapai 234.077 ha, dan pada tahun 2022 mencapai 232.145 ha. Menurut Astuti dkk., (2023) Rata-rata produksi buah kelapa di Indonesia mencapai 15,5 miliar butir per tahun. Dari jumlah tersebut, dihasilkan sekitar 1,8 juta ton serat sabut kelapa. Meskipun potensi produksi sabut kelapa sangat besar, Menurut *Indonesian Trade Promotion Center (ITPC) Osaka.*, (2022), Indonesia baru mengolah sekitar 3,2% dari total produksi kelapa per tahun menjadi produk turunan yang bernilai ekonomi.

Sabut kelapa mengandung selulosa dalam jumlah yang cukup tinggi, yaitu berkisar antara 29% hingga 43%. Kandungan selulosa tertinggi ditemukan pada

sabut kelapa dari buah yang telah tua, yaitu sebesar 43,40%, sementara sabut dari kelapa muda hanya mengandung sekitar 32,80% selulosa. Ketika sabut kelapa diolah, akan dihasilkan dua fraksi utama yaitu serat sabut (*cocofibre*) dan serbuk sabut (*cococoir*) (Indahyani., 2011). Potensi pengolahan hasil samping buah kelapa masih cukup tinggi, mengingat saat ini industri kelapa umumnya masih berfokus pada pemanfaatan daging buah sebagai produk utama. Sebaliknya, bagian-bagian lain seperti air kelapa, sabut, dan tempurung masih banyak diolah secara konvensional dan belum dimanfaatkan secara maksimal (Mahmudah., 2020). Sabut kelapa yang sering kali hanya menjadi limbah dan dibakar, sebenarnya memiliki potensi besar sebagai bahan baku bioetanol. Mengingat sekitar sepertiga bagian dari buah kelapa terdiri atas sabut, optimalisasi pemanfaatan limbah ini sebagai sumber bioetanol tidak hanya dapat mengurangi pencemaran lingkungan, tetapi juga memberikan nilai tambah secara ekonomi.

Pembuatan bioetanol dari bahan yang mengandung lignoselulosa melalui beberapa tahap, salah satunya adalah hidrolisis enzimatis. Hidrolisis enzimatis adalah proses konversi selulosa menjadi gula reduksi menggunakan enzim. Menurut Lü., (2021), hidrolisis enzimatis mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan hidrolisis asam antara lain: hidrolisis enzimatis membutuhkan lebih sedikit energi dan kondisi operasional yang lebih ringan (sekitar di bawah suhu 40–50°C dan pH 4–5), toksisitas rendah, kerusakan dan korosi rendah, biaya utilitas rendah, tidak ada produk sampingan penghambat, dan tidak ada kerusakan lingkungan.

Kandungan selulosa pada sabut kelapa dapat dimanfaatkan untuk memproduksi glukosa melalui hidrolisis menggunakan enzim selulase. Enzim

selulase adalah campuran beberapa enzim yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Produksi enzim selulase telah dilaporkan dari berbagai macam bakteri dan jamur. Namun, jamur berfilamen/kapang lebih disukai untuk produksi enzim komersial, karena tingkat enzim yang diproduksi oleh kultur ini lebih tinggi daripada yang diperoleh dari ragi/khamir dan bakteri. Hampir semua kapang dari genus *Aspergillus* mensintesis selulase, oleh karena itu genus ini memiliki potensi untuk mendominasi industri enzim (Mrudula & Murugammal., 2011).

Aspergillus niger merupakan salah satu kapang yang lazim digunakan untuk menghidrolisis selulosa. Mikroorganisme ini menghasilkan β -glukosidase tinggi dibandingkan jamur berfilamen lainnya. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Larasati, dkk (2018) menguji produksi enzim selulase antara strain *Aspergillus niger* dan *Trichoderma viride* dengan substrat fermentasi jerami padi menunjukkan hasil *Aspergillus niger* mampu memproduksi enzim selulase sebesar 15,23 U/g, sedangkan *Trichoderma viride* mampu memproduksi enzim selulase sebesar 13,23 U/g. Selain itu, *Aspergillus niger* juga memiliki kemampuan degradasi selulosa yang lebih baik dibandingkan mikroorganisme selulolitik lainnya seperti bakteri *Bacillus* sp. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Alaam *et al.*, (2024) untuk menguji kemampuan degradasi selulosa antara *Aspergillus niger* dan *Bacillus subtilis* pada substrat dedak gandum menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* menghasilkan aktivitas selulase tertinggi sebesar 124,48 U/ml, yang melebihi nilai prediksi sebesar 109,01 U/ml. Sebaliknya, aktivitas selulase terendah yang dihasilkan adalah sebesar 24,08 U/ml (nilai prediksi 25,34 U/ml), yang diperoleh pada kondisi pH 6, suhu 41°C, dan konsentrasi substrat 12%. Sementara itu, *Bacillus subtilis* menghasilkan aktivitas selulase tertinggi sebesar

95,64 U/ml (dengan nilai prediksi 91,01 U/ml), yang dicapai pada pH 9, suhu 50°C, dan konsentrasi substrat 7,96%. Aktivitas selulase terendah dari *Bacillus subtilis* tercatat sebesar 28,68 U/ml (nilai prediksi 26,88 U/ml), yang diperoleh pada pH 10,86, suhu 50°C, dan konsentrasi substrat 12%. Berdasarkan temuan dari berbagai penelitian sebelumnya, *Aspergillus niger* dipilih dalam penelitian ini sebagai agen penghasil enzim selulase karena kemampuannya yang tinggi dalam mendegradasi selulosa.

Proses Hidrolisis dan Fermentasi pada penelitian ini menggunakan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) merupakan suatu pendekatan yang mengintegrasikan proses hidrolisis dan fermentasi dalam satu tahap sehingga berlangsung secara bersamaan. Metode ini dianggap lebih efisien dibandingkan dengan metode *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) karena mampu mengurangi akumulasi senyawa inhibitor yang dapat menghambat proses fermentasi. Pada metode SSF, glukosa hasil hidrolisis dapat langsung dikonversi menjadi etanol oleh mikroorganisme (Nuraini & Ratni., 2021). Studi yang dilakukan oleh Jayus dkk., (2017) menunjukkan bahwa metode SSF mampu menghasilkan etanol dalam jumlah yang lebih tinggi dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan metode SHF. Dalam penelitian tersebut, metode SSF menghasilkan etanol sebesar 2,93 g/L dalam waktu 18 jam, sedangkan metode SHF hanya menghasilkan masing-masing 2,58 g/L dan 2,15 g/L dalam waktu 48 jam. Penelitian serupa oleh Dahnum *et al.*, (2015) juga memperkuat temuan tersebut, di mana metode SSF menghasilkan etanol sebesar 6,05% dalam waktu 24 jam, sedangkan metode SHF hanya menghasilkan 4,74% dalam waktu 72 jam.

Fermentasi dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan ragi roti yang merupakan *Saccharomyces cerevisiae* karena mikroorganisme ini memiliki kemampuan menghasilkan etanol dalam kadar yang tinggi, toleran terhadap konsentrasi etanol yang tinggi, stabil selama proses fermentasi, serta mampu bertahan pada suhu tinggi dan kondisi pH yang rendah. (Putri & Utami., 2017). Konsentrasi ragi dan konsentrasi enzim selulase merupakan salah satu faktor yang berpengaruh dalam fermentasi bioetanol. Berbagai penelitian sebelumnya seperti yang telah dilakukan oleh Anggorowati & Dewi., (2013) membuat bioetanol menggunakan sabut kelapa dengan konsentrasi ragi 1 gram dan waktu fermentasi 7, 8, 9, 10, 11 hari diperoleh kadar bioetanol tertinggi pada hari 7 sebesar 0.01289%. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Yuniarti & Efrinalia., (2018) membuat bioetanol menggunakan ampas tebu dengan variasi waktu fermentasi dan konsentrasi ragi diperoleh kadar bioetanol tertinggi pada hari ke 7 dan konsentrasi ragi 5 gram sebesar 4,9100%. Selain itu, penelitian yang telah dilakukan oleh Jannah dkk., (2022) membuat bioetanol menggunakan substrat sabut kelapa dengan konsentrasi ragi 5 gram, waktu fermentasi 7 hari, dan variasi volume enzim selulase diperoleh kadar bioetanol terbesar pada volume enzim 10 mL sebesar 42,63%.

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, penelitian ini perlu dilakukan dengan judul “Produksi Bioetanol Limbah Sabut Kelapa menggunakan Enzim Selulase *Aspergillus niger* dan Ragi Roti dengan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF)”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa?
2. Apakah konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa?
3. Apakah interaksi antara konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* dan konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dirumuskan diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa.
2. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa.
3. Untuk mengetahui pengaruh interaksi antara konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* dan konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*)

terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa.
2. Konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa.
3. Interaksi antara konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* dan konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) berpengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diharapkan mampu mengurangi permasalahan limbah organik sabut kelapa yang menumpuk dan dapat mencemari lingkungan
2. Dapat memberikan inovasi produksi bioethanol dari substrat yang lebih murah dan mudah didapatkan untuk mendukung pengembangan bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan.
3. Dapat menjadi solusi kenaikan harga bahan bakar minyak dan gas

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah adalah sabut kelapa tua yang diperoleh dari pedagang kelapa di Pasar Besar, Kota Malang.
2. Produksi enzim selulase menggunakan Isolat murni kapang *Aspergillus niger* yang didapatkan dari CV. Wiyasa Mandiri
3. Jenis ragi yang digunakan adalah ragi roti merk “Fermipan” yang didapat dari toko sembako di Pasar Besar, Kota Malang.
4. Pengukuran kadar etanol menggunakan metode pengukuran gravitasi jenis yang di cocokkan gravitasi jenis dari Internasional Organization of Legal Metrology (IOML) (Bhavan dan Marg, 2005).
5. Variasi konsentrasi ragi yang digunakan adalah 0 gram, 1 gram, 3gram, 5gram, dan 7 gram (b/v).
6. Variasi konsentrasi enzim selulase yang digunakan adalah 0 ml; 7,5 ml; 10 ml; 12,5 ml; dan 15 ml (v/v).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Limbah dalam Perspektif Islam

Pengolahan limbah adalah proses untuk menghilangkan zat pencemar dari air limbah dan limbah rumah tangga, termasuk air limpasan (efluen) dan limbah domestik. Proses ini melibatkan tahapan fisik, kimia, dan biologis yang bertujuan menghilangkan kontaminan baik yang bersifat fisik, kimia, maupun biologis. Tujuannya adalah menghasilkan efluen yang aman bagi lingkungan serta limbah padat atau lumpur yang dapat dibuang atau digunakan kembali. Limbah sering kali terkontaminasi dengan berbagai zat beracun, baik senyawa organik maupun anorganik (Sa'diyah., 2018).

Pengelolaan limbah sudah sepantasnya untuk dilakukan oleh manusia sebagai makhluk ciptaan Allah SWT yang paling sempurna sebagai upaya untuk menjaga bumi. Sebagai makhluk ciptaan Allah yang sempurna, manusia dibekali dengan akal. Akal adalah salah satu keistimewaan yang membedakan manusia dari hewan dan makhluk ciptaan lainnya. Baik manusia maupun hewan memiliki perasaan, tetapi hewan hanya mengandalkan insting dalam pengambilan keputusan, tanpa kemampuan berpikir lebih jauh seperti manusia. Allah mengajarkan manusia untuk selalu menggunakan akal yang diberikan-Nya untuk merenung dan berpikir, seperti yang dinyatakan dalam Al-Qur'an Surah Al-Jatsiyah ayat 13 yang berbunyi:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُۥ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ ﴿١٣﴾

Artinya: *“Dan Dia menundukkan untukmu apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berpikir.”* (QS Al-Jatsiyah [45]: 13).

Menurut Imam Asy-Syaukani., (2008) dalam lafadz firman *وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ* yang artinya: “Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya”, Maknanya adalah bahwa Allah telah menundukkan seluruh makhluk-Nya, baik yang berada di langit seperti matahari, bulan, bintang, komet, hujan, awan, dan angin, maupun yang ada di bumi. Seluruh ciptaan tersebut merupakan bentuk rahmat dan karunia dari Allah yang diperuntukkan bagi hamba-hamba-Nya sebagai wujud nikmat yang dapat dimanfaatkan untuk keberlangsungan hidup mereka. Selanjutnya pada lafadz *اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ لِّاٰلِمِي الْغٰوْبِ* yang artinya: “sesungguhnya pada yang demikian itu” (Yakni pada penundukan itu), dilanjutkan dengan lafadz *لَاٰيٰتٍ لِّاٰلِمِي الْغٰوْبِ* yang artinya: “benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berpikir”, Dengan menggunakan akal pikirannya, manusia dapat memperoleh petunjuk menuju tauhid. Sebaliknya, manusia yang enggan menggunakan akalinya tidak akan mampu menangkap petunjuk yang terkandung dalam berbagai tanda tersebut.

Dalam konteks ini, akal memiliki peran penting dalam kehidupan, termasuk sebagai wakil ilahi yang mengatur kehidupan di dunia. Akal memungkinkan manusia untuk membedakan antara yang benar dan salah, bersih dan kotor, serta yang bermanfaat dan merugikan. Islam mendorong manusia untuk menggunakan akalinya dalam mengamati perilaku dan melalui observasi termasuk dalam menjaga dan melestarikan lingkungannya. Dalam Al-Qur’an Allah juga memerintahkan manusia agar senantiasa menjaga dan melestarikan lingkungan serta melarang untuk melakukan perbuatan yang dapat merusak lingkungan, seperti yang dinyatakan dalam Al-Qur’an Surah Al-A’raf ayat 56 yang berbunyi:

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

Artinya: “Dan janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah (diciptakan) dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat kepada orang yang berbuat kebaikan.” (QS Al-Jatsiyah [45]: 13).

Menurut Lajnah Pentashih Mushaf Al-Qur’an Departemen Agama RI., (2009), ayat ini mengandung larangan untuk melakukan kerusakan atau tindakan yang tidak bermanfaat dalam berbagai bentuk, baik yang berkaitan dengan perilaku seperti merusak, membunuh, mencemari sungai, dan sebagainya, maupun yang berhubungan dengan akidah, seperti kemusyrikan, kekufuran, dan segala jenis kemaksiatan. Namun, istilah “*islah*” (إصلاحها) di sini, yang berlawanan dengan “*fasād*,” menurut para ulama, lebih merujuk pada akidah daripada perbaikan fisik. Artinya, Allah telah memperbaiki bumi ini melalui pengutusan Rasul, penurunan Al-Qur’an, dan penetapan syariat. Dengan demikian, kerusakan mental dapat menjadi penyebab munculnya kerusakan fisik.

Intisari dari ayat-ayat diatas adalah manusia dengan memfungsikan akal yang telah diberikan Allah baik dengan merenung atau menggunakan akal akan hal-hal tersebut maka akan sampai kepada kesadaran bahwa manusia tidaklah berdiri sendiri di alam ini, melainkan bahwa semua ini ada penciptaannya dan harus dimanfaatkan sebaik-baiknya serta tidak merusaknya. Secara kontekstual dalam penelitian ini, ayat tersebut menunjukkan bahwa pengolahan limbah sabut kelapa menjadi bioetanol adalah salah satu usaha untuk menjaga dan melestarikan lingkungan, serta mengurangi dampak negatif dari akumulasi limbah organik di lingkungan. Bioetanol yang dihasilkan dari sabut kelapa diharapkan dapat dikembangkan sebagai solusi alternatif untuk mengatasi permasalahan lingkungan

saat ini, seperti peningkatan suhu bumi akibat pemanasan global, penipisan cadangan energi dari bahan bakar fosil, serta pemanfaatan limbah sabut kelapa yang belum optimal.

2.2 Bioetanol

Bioetanol sering ditulis dengan rumus EtOH. Rumus molekulnya adalah C_2H_5OH , atau bisa juga ditulis C_2H_6O . Secara struktur, (Bio)etanol terdiri dari kelompok metil (CH_3-) yang terhubung dengan metilen ($-CH_2-$) dan hidroksil ($-OH$). Akronim umum untuk (Bio)etanol adalah EtOH (Ethyl-(OH)) (Simanjuntak & Subagyo., 2019). Pada umumnya etanol diproduksi secara fermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Etanol yang diproduksi dengan cara ini disebut sebagai bioetanol. Salah satu mikroorganisme yang umum dimanfaatkan dalam proses produksi bioetanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Mikroorganisme ini memiliki kemampuan untuk mengonsumsi gula sebagai sumber karbon dalam proses metabolismenya, sehingga dapat menghasilkan etanol sebagai produk akhir (Wartini dkk., 2017). Etanol dapat digunakan untuk berbagai keperluan; seperti industri minuman, kosmetik, industri farmasi seperti: bahan baku obat-obatan, deterjen, desinfektan, dan lain-lain (Gugule dkk., 2019). Etanol memiliki sejumlah sifat fisika dan kimia. Sifat fisika etanol ditunjukkan pada tabel 2.1 berikut.

Tabel 2.2 Sifat Fisik Etanol.

Keterangan	Nilai
Titik didih normal, °C, 1 atm	78,4
Titik lebur °C	-112
Berat molekul gr/grmol	46,07
Indeks bias cP	1,36143
Panas penguapan kal / gr	200,6
Densitas, , g/ml	0,7893
Viskositas pada 20°C, mPa.s	1,17
Kelarutan	Larut dalam air dan eter

Sumber: Novitasari dkk., (2012)

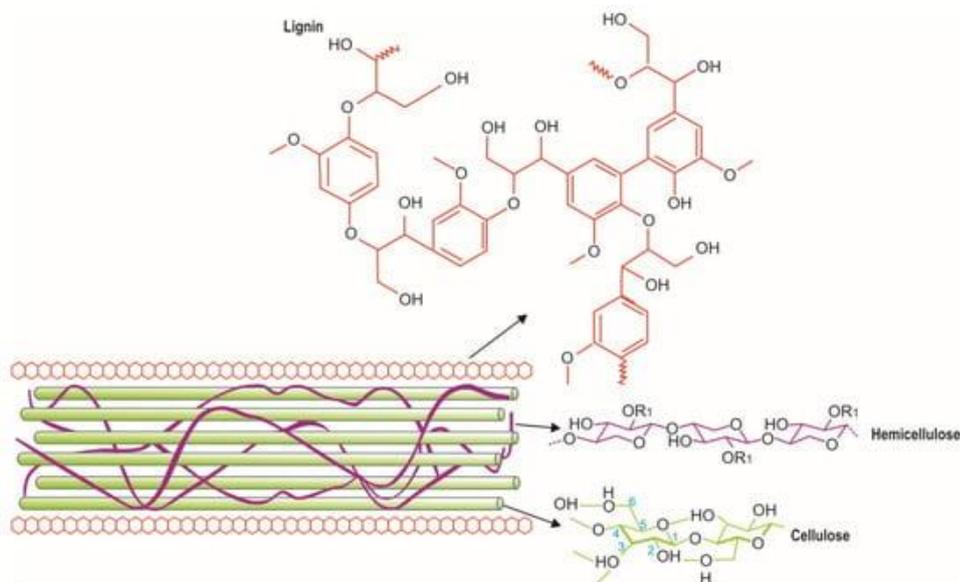
Selain memiliki karakteristik fisik, etanol juga memiliki sejumlah sifat kimia yang penting. Salah satu sifat utamanya adalah kemampuannya sebagai pelarut yang efektif untuk berbagai senyawa organik. Etanol bersifat mudah menguap dan sangat mudah terbakar. Dalam reaksi kimia, etanol dapat bereaksi dengan asam halida membentuk senyawa alkil halida disertai pembentukan air. Sementara itu, reaksi antara etanol dan asam karboksilat menghasilkan ester dan air. Selain itu, proses dehidrogenasi etanol akan menghasilkan senyawa asetaldehida. (Novitasari dkk., 2012).

Bioetanol dapat diklasifikasikan ke dalam empat generasi berdasarkan jenis bahan baku yang digunakan. Generasi pertama (G1) memanfaatkan bahan baku yang kaya akan pati atau gula. Generasi kedua (G2) menggunakan biomassa lignoselulosa sebagai sumber utamanya. Sementara itu, bioetanol generasi ketiga (G3) diperoleh dari mikroalga maupun makroalga. Adapun bioetanol generasi keempat (G4), yang juga dikenal sebagai bioetanol lanjutan (*advanced bioethanol*), dihasilkan dari biomassa atau mikroorganisme yang telah dimodifikasi secara genetik untuk meningkatkan efisiensi produksinya (Rifa'i dkk., 2022).

Bioetanol memiliki keunggulan diantaranya mampu menurunkan emisi CO₂ hingga 18 % dibandingkan dengan emisi bahan bakar fosil seperti minyak tanah. Selain itu, bioetanol memiliki kandungan oksigen yang tinggi, yaitu sekitar 35%, serta nilai oktan yang mencapai 118, sehingga menunjukkan karakteristik pembakaran yang lebih efisien (Wusnah *et al.*, 2020). Bioetanol dengan kemurnian 95–99% dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar pengganti bensin (premium), sedangkan bioetanol dengan kadar sekitar 40% dapat digunakan sebagai alternatif pengganti minyak tanah (Widyastuti., 2019).

2.3 Biomassa Lignoselulosa

Biomassa lignoselulosa adalah struktur kompleks yang terdiri dari mikrofibril-mikrofibril selulosa yang membentuk kelompok-kelompok, dengan hemiselulosa mengisi ruang di antara mikrofibril tersebut dan terikat kuat oleh lignin. Biomassa lignoselulosa tersusun atas selulosa (39-45%), hemiselulosa (15-38%), dan lignin (18-36%). Biomassa ini menyimpan sejumlah besar karbon dalam bentuk polisakarida dan lignin, yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku terbarukan untuk produksi bahan kimia dan bahan bakar. Struktur lignoselulosa seperti pada Gambar 2.1 berikut.

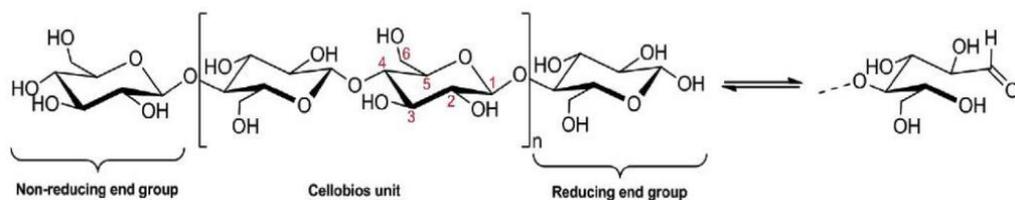


Gambar 2.3 Struktur Lignoselulosa (Tran *et al.*, 2019).

Saat ini, produksi bioetanol difokuskan pada pemanfaatan limbah lignoselulosa sebagai bahan baku. Teknologi produksi bioetanol dari lignoselulosa masih dalam tahap pengembangan, baik di negara maju maupun berkembang. Secara umum, proses produksi bioetanol dari lignoselulosa melibatkan beberapa tahapan, yaitu *pretreatment*, hidrolisis, fermentasi, dan pemisahan produk melalui distilasi (Hidayat., 2013).

2.3.1 Selulosa

Selulosa ($C_6H_{10}O_5$)_n adalah salah satu biopolimer yang memiliki sifat biokompatibel, biodegradable, dan cukup ekonomis. Selulosa tersusun dari ikatan-ikatan glukosa atau β -D-Glukopiranososa dalam rantai linier. Komponen ini merupakan bagian utama yang ditemukan di sebagian besar sel tumbuhan, terbentuk dari monomer glukosa dalam rantai polimer panjang. Dalam rantai selulosa, terdapat gugus fungsional aktif, yaitu tiga gugus aktif HO-6 primer serta HO-2 dan HO-3 sekunder pada setiap unit glukosa (Kunusa., 2017). Struktur selulosa seperti pada gambar 2.2 berikut.



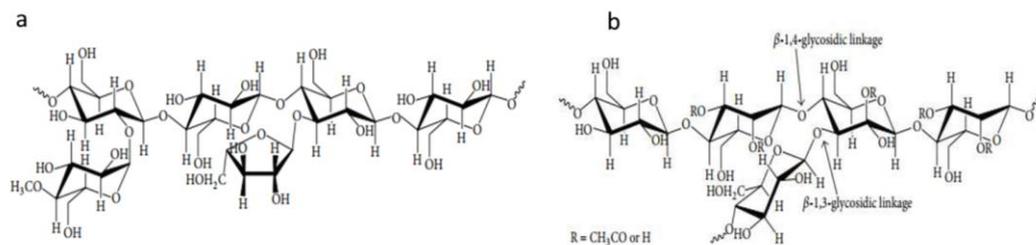
Gambar 2.3.1 Struktur Selulosa (Yahya *et al.*, 2015).

Struktur selulosa tersusun dalam dua bentuk utama, yakni kristalin dan amorf. Selulosa dalam bentuk kristalin memiliki konfigurasi yang padat, linear, dan teratur, sehingga tingkat resistensinya terhadap proses dekomposisi lebih tinggi. Sebaliknya, struktur amorf ditandai dengan susunan yang lebih acak dan longgar, sehingga lebih mudah mengalami degradasi (Kumar *et al.*, 2016). Selulosa digunakan dalam berbagai industri, seperti kertas, kemasan, tekstil, serta produk turunan seperti glukosa, selulosa asetat, dan alkohol.

2.3.2 Hemiselulosa

Sekitar 20-50% komponen biomassa lignoselulosa adalah hemiselulosa. Hemiselulosa terdiri dari rantai cabang pendek dengan berbagai jenis gula seperti xylan (pada kebanyakan tumbuhan angiospermae) dan glukomanan pada kebanyakan tumbuhan gymnospermae) (Gambar 4). Hemiselulosa tersusun atas

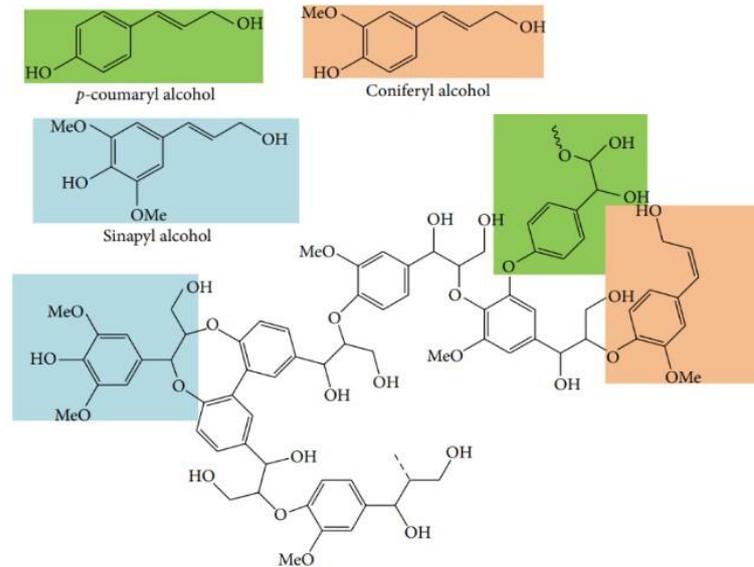
dua jenis ikatan glikosidik, yaitu β -(1,4)-glikosidik dan β -(1,3)-glikosidik. Komponen penyusunnya terdiri dari gula-gula berkarbon lima (pentosa) seperti xilosa, rhamnosa, dan arabinosa, serta gula berkarbon enam (heksosa) seperti glukosa, manosa, dan galaktosa. Selain itu, hemiselulosa juga mengandung senyawa asam uronat, termasuk asam 4-O-metilglukuronat, D-glukuronat, dan D-galaktouronat. Dibandingkan dengan selulosa, hemiselulosa memiliki berat molekul dan tingkat kristalinitas yang lebih rendah serta rantai samping yang relatif lebih pendek (Fatriasari dkk., 2019).



Gambar 2.3.2 Struktur Hemiselulosa (Lee *et al.*, 2014).

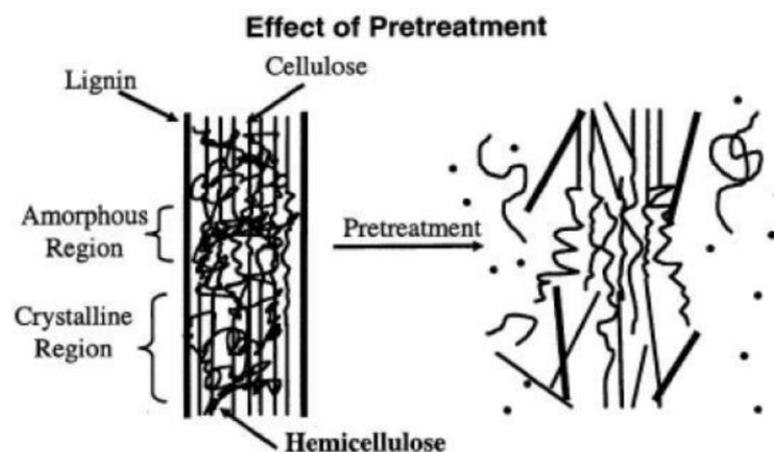
2.3.3 Lignin

Lignin adalah polimer dengan ikatan silang yang sangat kompleks, terdiri dari cincin aromatik yang dibentuk oleh tiga jenis asam fenolik atau monolignol, yaitu p-coumaryl alkohol, coniferyl alkohol/guaiacyl, dan synapyl alkohol/syringyl. Lignin terdapat di dinding sel tanaman, memberikan kekakuan serta perlindungan terhadap serangan mikroba dan stres oksidatif (Lee *et al.*, 2014).. Jenis lignoselulosa memengaruhi komposisi monolignol dalam lignin. Tiga jenis ikatan utama ditemukan dalam struktur lignin, yaitu ikatan alkil-aril, alkil-alkil, dan aril-aril eter, dengan ikatan eter β -O-5 yang paling dominan (Fatriasari dkk., 2019).



Gambar 2.3.3.1 Struktur Lignin (Lee *et al.*, 2014).

Secara umum, tanaman herba seperti rumput memiliki kandungan lignin terendah, sedangkan kayu lunak mengandung lignin paling tinggi. Pada kayu keras dan kayu lunak, lignin umumnya terdiri dari dua monolignol, yaitu siringil dan guaiakil dengan proporsi yang berbeda, sedangkan p-coumaryl alkohol lebih umum pada tanaman rumput. Struktur lignin yang rumit dengan ikatan karbon-karbon yang kuat membuat lignoselulosa sulit diurai. Oleh karena itu, penghilangan lignin melalui praperlakuan mempermudah akses ke selulosa untuk proses lebih lanjut (Amrillah dkk., 2022).



Gambar 2.3.3.2 Efek Praperlakuan untuk Penghilangan Lignin (Yahya *et al.*, 2015).

2.4 Sabut Kelapa

Pengolahan buah kelapa, khususnya pemanfaatan produk turunannya, masih menyimpan potensi besar untuk dikembangkan secara lebih optimal. Saat ini, industri kelapa cenderung memusatkan perhatian pada pengolahan daging buah sebagai produk utama, sementara pemanfaatan limbah samping seperti air kelapa, sabut, dan tempurung masih dilakukan secara konvensional dan belum mengalami pengembangan signifikan (Mahmudah., 2020). Di antara berbagai limbah tersebut, sabut kelapa (Gambar 2.4) merupakan salah satu jenis biomassa yang memiliki prospek tinggi untuk dikonversi menjadi sumber energi terbarukan.

Sabut kelapa merupakan limbah padat dari industri olahan kelapa yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, terutama pada awal tahun. Di negara-negara produsen kelapa utama seperti Indonesia, Thailand, Filipina, dan India, sabut kelapa telah lama dimanfaatkan sebagai komoditas ekspor bernilai ekonomi tinggi melalui pengolahan serat sabut (*coconut fiber*), dengan kontribusi sekitar 75,7 ribu ton terhadap kebutuhan dunia. Limbah ini mencakup proporsi terbesar dalam pengolahan kelapa dan secara klasifikasi termasuk ke dalam serat alami yang berasal dari buah kelapa. Hasil penguraian sabut kelapa menghasilkan dua komponen utama, yakni serat sabut (*cocofibre*) dan serbuk sabut (*cococoir*) (Indahyani., 2011).



Gambar 2.4 Sabut Kelapa (Anggorowati & Dewi., 2013).

Berdasarkan fraksi massa, buah kelapa terdiri atas beberapa komponen utama, yaitu sabut sebesar 35%, daging buah 28%, air kelapa 25%, dan cangkang 12%. Dengan demikian, sabut merupakan bagian terbesar dari buah kelapa. Secara kimia, sabut kelapa tersusun atas senyawa lignoselulosa, yang mencakup lebih dari 95% dari total massa sabut tersebut (Al Hafiizh dkk., 2022). Sabut kelapa memiliki kandungan lignoselulosa (hemiselulosa, lignin, dan selulosa) yang lebih tinggi dibandingkan beberapa kulit buah lainnya. Hal ini memungkinkan terdapat berbagai mikroorganisme endofit seperti jamur endofit yang dapat hidup di sabut kelapa, seperti *Aspergillus niger*, *Raffaelea sp.*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sp.*, dan *Pseudallescheria spp.* (Fuego *et al.*, 2021). Adapun komposisi kimiawi lignoselulosa dalam sabut kelapa terlampir pada Tabel 2.4.1 dan perbandingan komposisi lignoselulosa pada sabut kelapa dan beberapa kulit buah yang lain terlampir pada Tabel 2.4.2

Tabel 2.4.1 Komposisi Kimiawi Lignoselulosa dalam Sabut Kelapa

Komponen	% Fraksi Massa
Selulosa	39
Hemiselulosa	25
Lignin	35
Abu	0,5
Moisture	0,5

Sumber: Al Hafiizh dkk., (2022).

Tabel 2.4.2 Komposisi Selulosa, Hemiselulosa, dan Lignin pada Berbagai Kulit Buah

Kulit Buah	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin (%)	Referensi
Pisang	13	20	23	Dethan, 2024
Nanas	31	67	17	Nurfaizin & Hartati, 2023
Manggis	26	15	48,5	Mulyadi dkk, 2023
Sabut Kelapa	39	25	35	Al Hafiizh dkk, 2022
	43	0,25	45	Verma <i>et al.</i> , 2012
	27	18	41	Mulyawan dkk, 2015
Kakao	17	19,5	52	Wijaya & Wiharto, 2017

Penggunaan sabut kelapa umumnya hanya terbatas pada pembakaran atau dijadikan kerajinan tangan. Pembakaran sabut kelapa dapat menimbulkan polusi udara dan emisi gas yang merugikan lingkungan, serta memiliki nilai manfaat yang rendah. Oleh karena itu, jika sabut kelapa diubah menjadi bioetanol, hal ini tidak hanya dapat mengurangi limbah perkebunan kelapa dan polusi akibat pembakaran langsung, tetapi juga meningkatkan nilai guna sabut kelapa. Selain itu, produksi bioetanol secara massal dan berkelanjutan juga berpotensi mengurangi ketergantungan pada impor migas (Jannah & Aziz., 2017).

2.5 Kapang *Aspergillus niger*

2.5.1 Klasifikasi *Aspergillus niger*

Genus *Aspergillus* pertama kali diidentifikasi oleh Micheli pada tahun 1729 sebagai jamur yang berkembang biak secara aseksual, dengan konidiofor yang menyerupai *Aspergillum*. Setelah itu pada tahun 1863, Cramer melaporkan penemuannya bahwa *Aspergillus niger* dapat menyebabkan infeksi pada telinga (Brooks *et al.*, 2013). *Aspergillus niger* memiliki peran penting dalam bioteknologi

dan banyak digunakan untuk komersial melalui produksi enzim ekstraseluler. Spesies dalam kelompok ini telah dipelajari secara luas karena kemampuannya memproduksi enzim seperti amilase, selulase, protease, pektinase, dan fitase, menjadikannya salah satu penghasil enzim terbaik untuk berbagai aplikasi industri (Sabrini dkk., 2021). Klasifikasi dari *Aspergillus niger* adalah sebagai berikut (Food dan Drug of US, 1998):

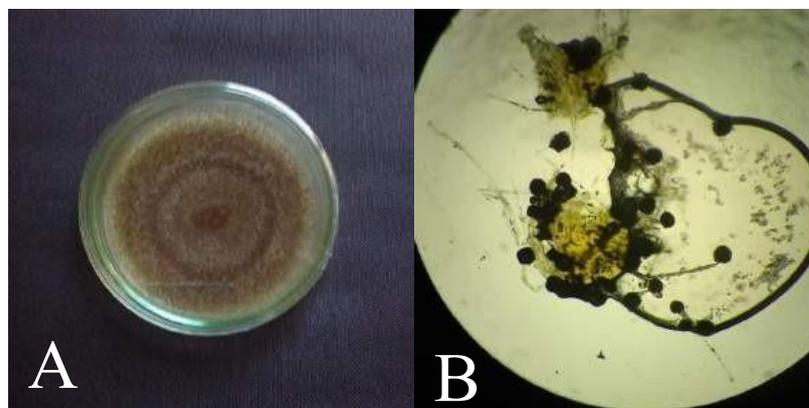
Kerajaan	: Fungi
Divisi	: Eumycetes
Kelas	: Deuteromycetes
Bangsa	: Moniliales
Keluarga	: Moniliaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus niger</i>

2.5.2 Ekologi dan Morfologi *Aspergillus niger*

Aspergillus memiliki ciri khas dengan hifa bersepta dan miselium yang bercabang, biasanya tidak berwarna. Hifa vegetatif terletak di permukaan, sementara hifa fertile muncul di atas permukaan. Koloninya padat dengan konidiofora bersepta atau nonsepta, yang berasal dari “*foot cell*” (miselium yang menebal). Ujung konidiofora membentuk vesikel tempat tumbuhnya konidia. Sterigmata, yang dapat berwarna atau tidak, menghasilkan rantai konidia yang berwarna hijau, coklat, atau hitam (Kapli & Athifahullaila., 2022).

Aspergillus niger merupakan jamur filamen yang tersebar luas di lingkungan alami. Secara taksonomi, spesies ini memiliki kekerabatan dekat dengan genus *Penicillium*. Isolasi *Aspergillus niger* umumnya dilakukan dari tanah,

sisa-sisa vegetasi, serta udara di dalam ruangan. kapang ini menunjukkan pertumbuhan optimal pada suhu 35–37°C, dengan kisaran suhu toleransi antara 6–8°C sebagai batas minimum dan 45–47°C sebagai batas maksimum (Prakash & Jha, 2014). Koloni muda *Aspergillus niger* tampak berwarna putih dan secara bertahap berubah menjadi hitam seiring pembentukan konidiospora. Struktur konidialnya berwarna hitam, sedangkan bagian bawah koloni awalnya berwarna putih hingga kuning, yang kemudian menjadi coklat gelap atau hitam setelah pembentukan konidiofor. Kepala konidia tersusun secara radial, dengan tangkai konidia berdinding halus dan sering kali berwarna coklat. Vesikel memiliki bentuk bulat hingga semi-bulat dengan diameter berkisar antara 10 hingga 100 µm. Fialid terletak pada metula dan berukuran sekitar 7,0–9,5 × 3–4 µm. Sementara itu, konidia berbentuk bulat atau semi-bulat, berdiameter 3,5–5 µm, dan memiliki warna coklat serta permukaan berornamen (Noverita., 2009).



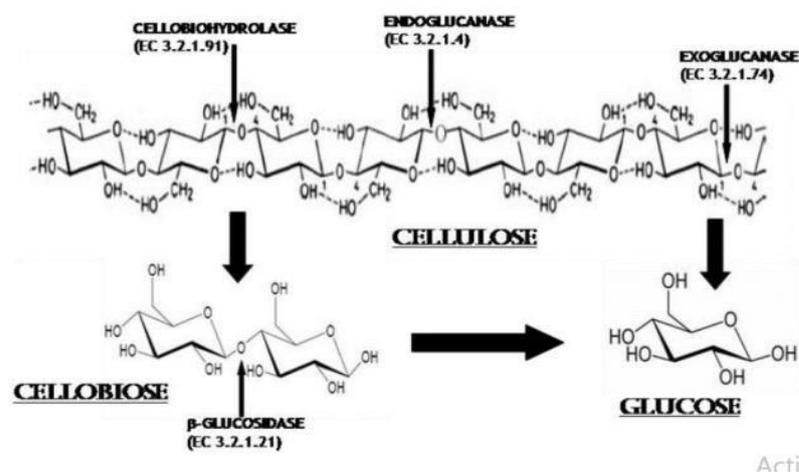
Gambar 2.5.2 Morfologi *Aspergillus niger*; A) Bentuk makroskopis *Aspergillus niger*; B) Bentuk mikroskopis *Aspergillus niger* (perbesaran 40x10) (Kapli & Athifahullaila., 2022).

2.6 Enzim Selulase

2.6.1 Struktur dan Mekanisme Enzim Selulase

Enzim selulase merupakan suatu sistem enzim yang terdiri dari tiga tipe enzim utama, yaitu kompleks endo-β-1,4-glukanase (CMCase, selulase

endoselulase, atau carboxymethylcellulase), kompleks ekso- β -1,4-glukanase (aviselase, selobiohidrolase, C1 selulase), dan β -1,4-glukosidase atau selobiasse. Enzim ini memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa dengan cara memutus ikatan glikosidik β -1,4 yang ada pada selulosa, selodektrin, selobiosa, serta turunan selulosa lainnya, menghasilkan gula sederhana atau glukosa (Dini & Munifah., 2014). Mekanisme kerja enzim selulase dalam menghidrolisis substrat selulosa dapat dijelaskan pada Gambar 2.6.1 berikut (Morana., 2011):



Gambar 2.6.1 Mekanisme Enzim Selulase dalam Menghidrolisis Substrat Selulosa (Morana., 2011).

Enzim selulase merupakan enzim yang bersifat *inducible*, yaitu hanya diproduksi oleh mikroorganisme tertentu ketika tersedia substrat berupa selulosa yang dapat dihidrolisis. Mikroorganisme penghasil enzim ini umumnya berasal dari kelompok bakteri, seperti *Acetivibrio*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, *Microbispora*, *Streptomyces*, dan *Ruminococcus*, serta dari beberapa spesies fungi yang termasuk dalam genus *Fusarium*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Myrothecium*, *Aspergillus*, dan *Trichoderma* (Fariq., 2016). Meskipun baik bakteri maupun fungi telah banyak diteliti terkait kemampuan mereka dalam memproduksi enzim selulase, kapang lebih sering digunakan dalam proses produksi

enzim ini. Hal ini disebabkan oleh kemampuannya menghasilkan selulase dalam jumlah yang relatif tinggi dan dengan struktur enzim yang lebih sederhana dibandingkan bakteri, sehingga mempermudah proses ekstraksi dan pemurniannya.

2.6.2 Uji Aktivitas Enzim Selulase

Uji aktivitas enzim selulase biasanya dilakukan untuk mengukur jumlah gula reduksi, seperti glukosa, yang terbentuk dari hasil degradasi selulosa oleh enzim. Metode yang umum digunakan adalah metode DNS (3,5-Dinitrosalicylic acid), yang dapat mendeteksi glukosa. Prosedurnya melibatkan pengujian enzim dengan substrat seperti carboxymethyl cellulose (CMC), kemudian hasil degradasi diukur sebagai peningkatan konsentrasi glukosa. Konsentrasi glukosa ini kemudian dihitung berdasarkan kurva standar yang dibuat dari pengenceran glukosa dengan konsentrasi tertentu (Tabel 2.6.2). Uji ini dilakukan dengan cara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm setelah reaksi dengan DNS, yang memberikan warna yang dapat diukur sebagai indikasi kadar gula reduksi (Murtiyaningsih & Hazmi., 2017).

Tabel 2.6.2 Konsentrasi Larutan Glukosa pada Pembuatan Standart Glukosa

Konsentrasi		H ₂ O steril (ml)	Larutan stok standar glukosa (ml)
ppm	mg/ml		
0	0.00	2.00	0.00
50	0.05	1.90	0.10
100	0.10	1.80	0.20
150	0.15	1.70	0.30
200	0.20	1.60	0.40
250	0.25	1.50	0.50
300	0.30	1.40	0.60

Sumber : Murtiyaningsih & Hazmi (2017)

2.7 Ragi Roti

Ragi roti instan adalah jenis ragi kering yang umum dijual di pasaran dan mudah diperoleh, menjadikannya salah satu alternatif yang efektif untuk proses

fermentasi bioetanol. Ragi ini memiliki daya tahan yang lama dan bentuk butiran yang kecil serta kasar. Menurut Dey & Saggi., (2016), ragi komersial memiliki sejumlah keunggulan, di antaranya adalah daya simpan yang panjang (dapat disimpan lebih dari satu tahun), viabilitas atau tingkat kelangsungan hidup sel yang tinggi (hingga $4,6 \times 10^{10}$ sel khamir per gram), efisiensi fermentasi yang optimal, serta risiko kontaminasi mikroorganisme yang sangat rendah atau bahkan nihil. Selain itu, ragi ini juga terjangkau secara ekonomi dan memiliki karakteristik unggul, seperti kemampuan beradaptasi terhadap suhu tinggi, konsentrasi gula yang tinggi, kandungan alkohol yang tinggi, serta toleransi terhadap fluktuasi pH lingkungan). Klasifikasi dari *Saccharomyces cerevisiae* adalah sebagai berikut (Rehm & Reed., 1983):

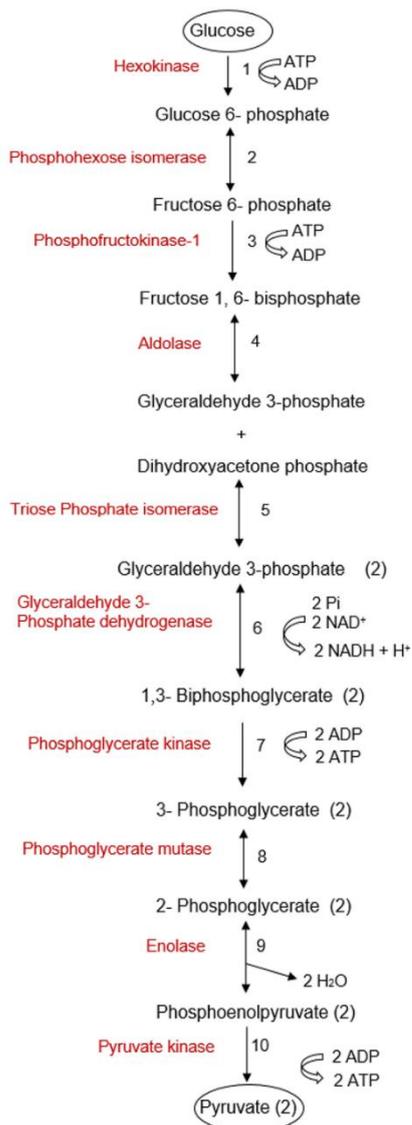
Kerajaan	: Fungi
Divisi	: Eumicotina
Kelas	: Hemiaseomycetes
Bangsa	: Endomycetales
Keluarga	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Ragi *Saccharomyces cerevisiae* awalnya dikembangkan untuk produksi alkohol karena kemampuannya dalam menghasilkan alkohol melalui fermentasi karbohidrat. Saat ini, ragi ini memiliki nilai komersial yang signifikan dan diterapkan tidak hanya dalam bioteknologi tradisional, tetapi juga di berbagai sektor seperti industri makanan, minuman, farmasi, pertanian, produksi enzim, dan biofuel (Senam., 2009). Suhu optimal untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

berkisar antara 25 hingga 30°C, dengan pH optimal antara 4,5 hingga 5,5. Mikroorganisme ini memiliki beberapa keunggulan dalam proses fermentasi, di antaranya kemampuan untuk berkembang biak dengan cepat, toleransi terhadap konsentrasi alkohol yang tinggi, stabilitas sifatnya, serta kemampuan adaptasi yang cepat. Faktor-faktor yang memengaruhi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* meliputi penambahan nutrisi, seperti sumber karbon (C), sumber nitrogen (N) yang diperoleh dari bahan seperti urea, ZA, amonium, dan pepton, serta mineral dan vitamin (Khazalina., 2020).

2.8 Fermentasi Bioetanol

Fermentasi bioetanol merupakan suatu proses bioteknologi di mana mikroorganisme seperti ragi, bakteri, atau mikroba lainnya mengkonversi gula menjadi etanol dan karbon dioksida. Meskipun fermentasi umumnya berlangsung dalam kondisi aerobik, ragi juga mampu mengolah bahan baku dalam keadaan tanpa oksigen (anaerobik). Pada kondisi anaerobik, fermentasi berlangsung di dalam sitosol ragi. Proses ini dimulai dengan pemecahan gula menjadi piruvat melalui jalur glikolisis, di mana setiap molekul glukosa menghasilkan dua molekul asam piruvat. Selanjutnya, piruvat tersebut direduksi menjadi dua molekul etanol dan dua molekul karbon dioksida (Malakar *et al.*, 2020).



Gambar 2.8 Mekanisme glikolisis jalur *Embden Meyerhof- Parnas Pathway* (Ajala., 2020).

Tahap pertama glikolisis melibatkan konversi glukosa menjadi fruktosa-1,6-bisfosfat, yang memerlukan 2 ATP dan berlangsung dalam tiga langkah. Glukosa awalnya difosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat oleh enzim heksokinase, yang terdiri dari dua tipe dengan aktivitas berbeda. Fosforilasi ini mengonsumsi ATP dan menjaga konsentrasi heksosa rendah di dalam sel, memungkinkan pengangkutan gula terus berlanjut. Selanjutnya, glukosa-6-fosfat diisomerisasi menjadi fruktosa-6-fosfat oleh enzim fosfoglukosa isomerase, lalu difosforilasi lagi oleh

fosfofruktokinase (PFK) untuk membentuk fruktosa-1,6-bifosfat, mengonsumsi 1 ATP lagi (Sarris & Papanikolao., 2016).

Pada tahap kedua glikolisis, fruktosa-1,6-bifosfat dipecah oleh aldolase menjadi gliseraldehida-3-fosfat (G3P) dan dihidroksiaseton fosfat (DHAP), dengan DHAP diubah menjadi G3P oleh triosa fosfat isomerase. G3P kemudian diubah menjadi 1,3-bifosfogliserat, menghasilkan NADH. Fosfogliserat kinase mengubah 1,3-BGP menjadi 3-fosfogliserat, menghasilkan 1 ATP. Glikolisis berakhir dengan konversi 3-fosfogliserat menjadi piruvat melalui beberapa langkah, dan menghasilkan total dua molekul piruvat, empat ATP, dan dua NADH dari satu molekul glukosa. Energi bersih yang diperoleh adalah dua ATP, karena dua ATP digunakan pada awalnya (Sarris & Papanikolao., 2016).

Piruvat kemudian digunakan oleh ragi dalam fermentasi alkohol, di mana NAD^+ diregenerasi dari NADH untuk melanjutkan glikolisis. Dalam fermentasi, piruvat didekarboksilasi menjadi asetaldehida, yang kemudian direduksi menjadi etanol sambil mengoksidasi NADH menjadi NAD^+ . Asetaldehida bertindak sebagai akseptor elektron, dengan etanol dan karbon dioksida sebagai produk akhir fermentasi yang dilepaskan dari sel melalui difusi sederhana (Sarris & Papanikolao., 2016).

Terdapat beberapa faktor yang memengaruhi pembuatan bioetanol pada tahap fermentasi, diantaranya adalah:

1. Bahan Baku

Bahan baku yang mengandung senyawa organik terutama glukosa, pati, atau selulosa, dapat digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi bioetanol (Prescott dan Dunn., 1959)

2. Suhu

Suhu optimal yang umumnya digunakan untuk fermentasi berkisar antara 27 hingga 32°C (Erliza., 2008).

3. pH

Pada umumnya, pH optimum untuk fermentasi berkisar antara 3,4 hingga 4, tergantung pada kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan starter dan metabolisme ragi (Winarno & Ferdiaz., 1992)

4. Lama Fermentasi

Durasi fermentasi umumnya ditentukan oleh jenis bahan baku, jenis ragi yang digunakan, serta konsentrasi gula. Fermentasi berhenti ditandai dengan berhentinya produksi CO₂. Kadar etanol yang dihasilkan akan mencapai puncaknya pada waktu optimal, dan setelah itu akan mulai menurun (Prescott dan Dunn., 1959)

5. Kadar Gula

Kadar optimal gula untuk pertumbuhan awal adalah antara 10 hingga 18 persen. Gula berperan sebagai bahan dasar yang menyediakan karbon yang diperlukan bagi ragi dalam mempercepat pertumbuhannya dan mengubah karbohidrat menjadi etanol. Jika konsentrasi gula terlalu tinggi, enzim akan terhambat, mengakibatkan fermentasi menjadi lambat dan menyisakan gula yang tidak terpakai. Sebaliknya, jika konsentrasi gula terlalu rendah, etanol yang dihasilkan akan kurang, dan proses distilasi akan menjadi tidak efisien dan mahal. Ketika kadar gula kurang dari 10 persen, fermentasi masih mungkin tetapi etanol yang dihasilkan kurang pekat, sementara jika kadar gula lebih dari 18 persen, fermentasi akan berkurang dan etanol yang dihasilkan dapat

menghambat aktivitas ragi, menyebabkan fermentasi berlangsung lebih lama, dan sebagian gula tidak terfermentasi (Winarno & Fardiaz., 1992).

6. Nutrisi

Nutrisi diperlukan sebagai suplemen makanan bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan ragi selama proses fermentasi berlangsung, misalnya: unsur C yang terdapat pada karbohidrat, unsur N yang terdapat pada pupuk yang mengandung nitrogen, ZA, Urea, dan unsur P yang terdapat pada pupuk fosfat dari NPK, TSP, DSP, dan lain-lain (Winarno & Fardiaz., 1992).

Salah satu pendekatan dalam proses fermentasi etanol adalah metode Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). SSF merupakan teknik produksi bioetanol yang mengintegrasikan tahap hidrolisis enzimatik dan fermentasi dalam satu proses yang berlangsung secara bersamaan. Metode ini pertama kali diperkenalkan oleh Takagi *et al.*, pada tahun 1977, yang menggabungkan penggunaan enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa dan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* untuk fermentasi gula secara simultan dalam satu reaktor. Keunggulan utama dari metode SSF adalah kemampuannya dalam mengatasi hambatan aktivitas enzim yang disebabkan oleh akumulasi glukosa dan selobiosa yang selama ini menjadi kelemahan dari proses fermentasi etanol yang dilakukan secara terpisah (Olofsson *et al.*, 2008). Selain itu, karena monosakarida hasil hidrolisis langsung difermentasi menjadi etanol oleh yeast, maka kemungkinan terbentuknya kembali polisakarida dapat dicegah. Penggunaan satu reaktor dalam metode ini juga berkontribusi terhadap efisiensi biaya, khususnya dalam hal pengadaan dan penggunaan peralatan proses (Samsuri dkk., 2007).

2.9 Distilasi Bioetanol

Distilasi atau penyulingan adalah suatu teknik pemisahan zat kimia berdasarkan perbedaan dalam kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) suatu zat. Distilasi juga bisa didefinisikan sebagai teknik pemisahan kimia yang memanfaatkan perbedaan titik didih. Dalam proses penyulingan, campuran zat dipanaskan hingga menguap lalu uap tersebut kemudian dikondensasikan kembali menjadi bentuk cair. Komponen yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap lebih awal. Metode ini termasuk dalam kategori unit operasi kimia yang melibatkan perpindahan massa. Penerapan proses ini didasarkan pada teori bahwa dalam suatu larutan, setiap komponen akan menguap pada titik didihnya (Bahri dkk., 2019).

Proses distilasi dilakukan dengan menggunakan peralatan yang dirancang khusus. Larutan dimasukkan ke dalam labu distilasi yang dipanaskan menggunakan pemanas listrik yang dilengkapi dengan pengatur suhu otomatis. Uap yang terbentuk akibat pemanasan dialirkan menuju kondensor, sebuah alat penukar panas yang berfungsi mendinginkan uap hingga terjadi kondensasi. Kondensor ini terdiri dari dua pipa, satu berada di dalam dan satu di luar, dengan aliran air yang terus mengalir untuk menjaga kestabilan suhu. Pendinginan air berasal dari kran dan mengalir melalui pipa keluar ke penampungan. Sebelum mencapai kondensor, campuran terkadang melewati kolom distilasi untuk mengontrol aliran uap. Kolom ini dilengkapi dengan termometer untuk memastikan suhu tetap stabil, sehingga seluruh uap dapat terkondensasi tanpa kebocoran. Uap yang terkondensasi kemudian mengalir ke labu penampung melalui adaptor dan dapat dilengkapi dengan kran untuk memudahkan pengaturan aliran (Wonorahardjo., 2013).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2024 hingga April 2025. Proses pemurnian isolat *Aspergillus niger*, produksi enzim selulase, hidrolisis enzimatik, dan fermentasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Proses distilasi etanol dan pengukuran kadar etanol dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, blender, erlenmeyer dan beakerglass (IWAKI), cawan petri, tabung reaksi, tabung centrifuge, alat pengayak, autoklaf (ALP), oven, *hotplate* (Thermo Scientific), neraca analitik, *Laminar Air Flow* (LAF) merek (Esco), *shaker incubator* merek (Benchmark), Mikropipet, jarum ose, thermometer, kertas lakmus, pH meter, kertas saring, botol selai, selang kecil, spektrofotometer, piknometer, tisu/kain lap dan sepasang alat distilasi.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah air, sabut kelapa (*Cocos nucifera*), aquades, NaOH 1,5M, NaOCl 5%, Alkohol 70%, ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) merek Fermipan, Media PDA, Kloramfenikol, Isolasi

Aspergillus niger, glukosa murni, urea , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Buffer Sitrat, DNS, CMC, plastisin, dan *aluminium foil*,

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan pendekatan eksperimen dengan metode deskriptif kuantitatif, yang dirancang berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan lima tingkat perlakuan, yaitu konsentrasi 0 gram, 1 gram, 3 gram, 5 gram, dan 7 gram (b/v). Faktor kedua berupa konsentrasi enzim selulase dengan lima taraf, yaitu konsentrasi 0 ml, 7,5 ml, 10 ml, 12,5 ml, dan 15 ml (v/v). Kombinasi dari kedua faktor tersebut menghasilkan total 25 kombinasi perlakuan sebagai berikut:

Konsentrasi Enzim Selulase (v/v) (E)	Konsentrasi Ragi (b/v) (R)				
	0 gram (R0)	1 gram (R1)	3 gram (R2)	5 gram (R3)	7 gram (R4)
0 mL(E0)	R0E0 (P1)	R1E0 (P6)	R2E0 (P11)	R3E0 (P16)	R4E0 (P21)
7,5 mL (E1)	R0E1 (P2)	R1E1 (P7)	R2E1 (P12)	R3E1 (P17)	R4E1 (P22)
10 mL (E2)	R0E2 (P3)	R1E2 (P8)	R2E2 (P13)	R3E2 (P18)	R4E2 (P23)
12,5 mL (E3)	R0E3 (P4)	R1E3 (P9)	R2E3 (P14)	R3E3 (P19)	R4E3 (P24)
15 ml (E4)	R0E4 (P5)	R1E4 (P10)	R2E4 (P15)	R3E4 (P20)	R4E4 (P25)

Setelah jumlah perlakuan yang merupakan hasil kombinasi dari dua faktor ditentukan, langkah selanjutnya adalah menetapkan jumlah ulangan. Penetapan ini mengacu pada ketentuan bahwa nilai dari $(t-1)(r-1) \geq 15$ dengan t mewakili jumlah perlakuan dan r menunjukkan jumlah ulangan yang digunakan (Hanafiah., 2014).

Berdasarkan rumus tersebut, maka jumlah ulangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak dua kali ulangan.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri persiapan dan *Pretreatment* sabut kelapa, penyiapan kultur *Aspergillus niger*, produksi dan ekstraksi enzim selulase kasar, hidrolisis enzimatik, fermentasi, distilasi, pengurangan kadar etanol, dan analisis data. Prosedur kerja secara rinci adalah sebagai berikut:

3.4.1 Persiapan dan *Pretreatment* Sabut Kelapa

3.4.1.1 Persiapan sampel

Sabut kelapa yang digunakan berasal dari penjual kelapa di Pasar Besar, Sukoharjo, Kecamatan Klojen, kota Malang. Sabut kelapa yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran, dipotong kecil-kecil, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu, sabut kelapa digiling dengan mesin penggiling dan diayak hingga menjadi bubuk sabut kelapa.

3.4.1.2 *Pretreatment* Sampel

3.4.1.2.1 Delignifikasi Sabut Kelapa

Proses delignifikasi sampel sabut kelapa bertujuan untuk menghilangkan atau memutus ikatan lignin pada selulosa dengan mempercepat pembukaan lignoselulosa struktur sehingga lebih mudah untuk mengakses selulosa. Proses delignifikasi menggunakan larutan alkali dilakukan dengan memasukkan sebanyak 300 gram bubuk sabut kelapa ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan larutan NaOH 10% sebanyak 500 mL dan dipanaskan selama 90 menit dengan suhu 80°C, lalu sampel sabut kelapa disaring dan dicuci dengan aquadest sampai pH mencapai netral (Rahayu *et al*, 2022). Sabut kelapa yang telah melalui proses

delignifikasi mengalami perubahan warna menjadi lebih cerah. Hal ini disebabkan hilangnya lignin yang mengandung senyawa kromofor aromatik yaitu gugus yang memberikan warna gelap atau kecoklatan (Jayanudin., 2010).

3.4.1.2.2 Bleaching Sampel

Sampel sabut kelapa yang telah didelignifikasi dilanjutkan ke tahap pemutihan (*bleaching*) untuk meminimalkan degradasi selulosa pada sampel dengan menghilangkan kandungan lignin secara maksimal. Proses *bleaching* menggunakan NaOCl 5% sebagai *bleaching agent*. Proses *bleaching* dilakukan dengan memasukkan sampel sabut kelapa yang telah didelignifikasi kedalam erlenmeyer lalu ditambahkan NaOCl 5% dengan perbandingan sampel dan *bleaching agent* 1:10, selanjutnya dipanaskan pada suhu 60 °C selama 18 menit . Warna sampel akan berubah dari coklat menjadi putih, kemudian disaring dan padatan dicuci menggunakan air suling hingga pH menjadi netral (mencapai 7). Filtrat kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 45°C selama 24 jam (Rahayu *et al.*, 2022).

3.4.2 Penyiapan Kultur *Aspergillus niger*

3.4.2.1 Pembuatan Media PDA

Proses pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) diawali dengan menimbang sebanyak 39 gram serbuk media PDA dan melarutkannya dalam 1000 mL aquades di dalam erlenmeyer. Larutan tersebut kemudian dipanaskan hingga mendidih dan tercampur secara homogen. Setelah homogen, larutan didinginkan hingga mencapai suhu sekitar 36–37 °C. Selanjutnya, dilakukan penyesuaian pH media agar berada dalam rentang 4,5 hingga 5,5. Erlenmeyer kemudian ditutup rapat menggunakan kapas dan kasa, lalu media disterilkan dalam autoklaf pada

suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan dua atmosfer. Setelah proses sterilisasi selesai, media ditambahkan dengan 20 mL kloramfenikol secara aseptik di dalam *laminar air flow* guna menghambat pertumbuhan mikroorganisme kontaminan seperti bakteri. Langkah akhir dilakukan dengan menuangkan media ke dalam cawan petri dan membiarkannya hingga memadat (Jamilatun dkk., 2020).

3.4.2.2 Sub-Kultur Isolat *Aspergillus niger*

Subkultur dilakukan untuk mendapatkan isolat murni kapang. Metode tanam dilakukan dengan mengambil bagian miselium biakan kapang *Aspergillus niger* pada permukaan agar miring dengan jarum ose pada medium PDA yang baru. Hasil sub kultur diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu ruang (Isnawati., 2019).

3.4.2.3 Pengambilan Suspensi Spora *Aspergillus niger*

Isolat *Aspergillus niger* yang telah ditumbuhkan dalam cawan petri selama 7 hari, diberi perlakuan dengan 10 mL larutan *tween 80* 0,1% dan digoyang perlahan selama 2–3 menit untuk melepaskan spora. Selanjutnya, dengan teknik aseptis, 1 mL larutan spora diambil menggunakan pipet dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril. Kultur kemudian dihomogenkan untuk menghasilkan seri pengenceran 10^{-2} (Rosyida *et al.*, 2018). Sebanyak 100 μ L dari larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam hemocytometer, lalu dihitung di bawah mikroskop menggunakan *handcounter*, sehingga diperoleh konsentrasi sekitar 10^7 spora/mL. (Murni dkk., 2012).

3.4.3 Uji Aktivitas Selulolitik Kapang *Aspergillus niger*

3.4.3.1 Pembuatan Media CMC Agar 1%

Pembuatan media CMC terdiri dari 1,36 gr KH_2PO_4 , 1 gr $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, 0,2 gr $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 gr yeast ekstrak, 0,01 gr $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 gr NaCl, 10 gr CMC,

15 gr agar dalam 1000 ml akuades, kemudian dimasukan kedalam erlenmeyer. Selanjutnya, dipanaskan diatas *hotplate* hingga mendidih dan dihomogenkan lalu disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm.

3.4.3.2 Uji Aktivitas Selulolitik

Uji aktivitas selulolitik secara kualitatif dilakukan dengan menginokulasikan isolat kapang murni kedalam media CMC (*Carboxy Methylcellulose*) agar dan diinkubasi disuhu ruang selama 24 jam. Setelah isolat kapang tumbuh, permukaan medium disiram dengan indikator *Congo red*. Selanjutnya, sampel diinkubasi selama 15 menit dan kemudian dicuci menggunakan larutan NaCl 1 M hingga terbentuk zona bening yang tampak jelas. Proses pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan zat pewarna *Congo red* yang tidak terikat pada polisakarida (Siruwahni & Rasyidah., 2023). Setelah itu, dilakukan pengukuran terhadap diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni serta diameter koloni itu sendiri. Nilai indeks zona bening yang tinggi mengindikasikan bahwa koloni tersebut memiliki potensi aktivitas enzim selulase yang lebih besar dibandingkan isolat lainnya, yang ditentukan berdasarkan nilai indeks selulolitik yang dihasilkan. Indeks selulolitik (IS) dapat dihitung menggunakan rumus berikut (Sutari., 2020):

$$\text{Indeks aktivitas selulolitik (IS)} = \frac{\text{Diameter zona bening (DB)} - \text{diameter koloni (DK)}}{\text{Diameter koloni (DK)}}$$

3.4.4 Produksi Enzim Selulase Kasar *Aspergillus niger*

Produksi enzim selulase kasar oleh isolat kapang *Aspergillus niger* dilakukan dengan membuat larutan nutrisi yang terdiri dari urea (3 g/L), (NH₄)₂SO₄

(10 g/L), KH_2PO_4 (3 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/L), dan $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/L) dalam akuades. pH awal diukur dan disesuaikan hingga mencapai pH 5. Selanjutnya dimasukkan Sebanyak 5 g serbuk sabut kelapa ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan larutan nutrisi. Selanjutnya diinokulasikan 1 ml suspensi spora *Aspergillus niger* (Murni dkk., 2012). Campuran diinkubasi pada suhu ruang dengan pengocokan 150 rpm menggunakan shaker selama 6 hari (Purkan & Sumarsih., 2015).

3.4.5 Ekstraksi Enzim Selulase Kasar *Aspergillus niger*

Setelah waktu inkubasi tercapai, enzim diekstraksi menggunakan 50 ml larutan 0,1 N buffer sitrat (pH 4,8). Hasil ekstraksi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan diambil dan digunakan sebagai sampel enzim kasar (*crude enzyme*) (Murni dkk., 2012). Pada saat tidak digunakan, enzim disimpan pada suhu 4°C (Anwar dkk., 2011). Supernatan yang dihasilkan merupakan enzim ekstrak kasar selulase (*crude enzim*) yang kemudian diuji aktivitasnya.

3.4.6 Uji Aktivitas Enzim Selulase

3.4.6.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Untuk membuat kurva standar glukosa, pertama dibuat larutan stok glukosa dengan melarutkan 1 gram glukosa (1000 mg) dalam 100 ml air steril, sehingga diperoleh konsentrasi larutan stok sebesar 10 mg/ml. Selanjutnya, untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 1 mg/ml, sebanyak 1 ml larutan stok dicampurkan dengan 9 ml air steril. Dari larutan induk tersebut, dilakukan serangkaian pengenceran bertingkat dengan konsentrasi 0, 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm. Sebanyak 0,1 mL larutan glukosa dengan konsentrasi 1 mg/mL

dicampurkan dengan 1,9 mL air steril, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DNS (3,5-Dinitrosalisilat) dan dihomogenkan menggunakan alat vortex. Campuran selanjutnya diinkubasi pada suhu 100°C selama 15 menit. Setelah proses inkubasi, larutan didinginkan dan absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan perangkat lunak Microsoft Excel, dengan absorbansi sebagai sumbu-x dan konsentrasi sebagai sumbu-y untuk memperoleh persamaan regresi linear serta koefisien korelasi yang menggambarkan hubungan antara kedua variabel. (Murtiyaningsih & Hazmi., 2017).

3.4.6.2 Uji Aktivitas Enzim pada Enzim Selulase Kasar *Aspergillus niger*.

Aktivitas enzim selulase dianalisis berdasarkan konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan. Pengujian dilakukan menggunakan tiga kelompok tabung reaksi, yaitu: sampel, kontrol, dan blanko. Pada kelompok sampel, sebanyak 1 mL enzim ekstrak kasar dicampurkan dengan 1 mL larutan CMC 1%, kemudian dikocok menggunakan vortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 60 menit. Setelah proses inkubasi, ditambahkan 2 mL larutan DNS, dan campuran tersebut dipanaskan dalam waterbath bersuhu 100°C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga suhu ruang. Pada kelompok kontrol, larutan CMC 1% sebanyak 1 mL terlebih dahulu dicampurkan dengan 2 mL DNS, kemudian baru ditambahkan 1 mL enzim ekstrak kasar. Selanjutnya, campuran dikocok dan dipanaskan dalam waterbath pada suhu 100°C selama 10 menit. Adapun pada kelompok blanko, digunakan campuran yang terdiri dari 1 mL larutan CMC 1%, 2 mL DNS, dan 1 mL akuades, yang kemudian dihomogenkan dan diinkubasi dengan perlakuan yang sama seperti kelompok lainnya. Setelah proses pendinginan, absorbansi dari ketiga

kelompok tabung diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Aktivitas enzim secara kuantitatif dapat dihitung menggunakan rumus berikut (Murtiyaningsih & Hazmi., 2017):

$$\text{Aktivitas Selulase (U/mL)} = \frac{(\text{X}_{\text{sampel}} - \text{X}_{\text{kontrol}}) \times \text{FP}}{v \times t \times \text{BM}}$$

Keterangan :

FP = Faktor Pengenceran (1000)

v = Volume Enzim (1 mL)

t = Waktu Inkubasi (10 menit)

BM = Berat Molekul Glukosa (180,18 mg/mL)

3.4.7 Proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF)

Hidrolisat dari proses delignifikasi yang berupa bubuk sabut kelapa sebanyak 5 gr dimasukkan ke dalam botol selai yang sudah disterilisasi kemudian ditambahkan aquades sebanyak 200 mL dan enzim selulase sebanyak yang sudah ditetapkan yaitu 0 mL sebagai kontrol, 7,5; 10, dan 12,5 mL (v/v) lalu ditambahkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang sudah ditetapkan yaitu 0 gram sebagai kontrol, 3, 5, dan 7 gram (b/v). Selanjutnya, campuran larutan dihomogenkan melalui proses pengadukan menggunakan alat shaker pada kecepatan 100 rpm selama 10 menit. Pengadukan ini bertujuan untuk memperoleh larutan yang homogen. Botol selai kemudian ditutup rapat menggunakan plastisin, dan bagian ujung botol dihubungkan ke sumber air melalui selang yang dipasang secara terintegrasi sebagai airlock dan mencegah kontaminasi. Proses inkubasi dilakukan selama 7 hari pada masing-masing perlakuan (Jannah dkk., 2020).

3.4.8 Distilasi Larutan Hasil Fermentasi

Proses distilasi dilakukan dengan memasukkan larutan hasil *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) ke dalam alat distilasi. Larutan tersebut

kemudian dipanaskan pada suhu 79°C untuk memisahkan campuran alkohol dan air, mengingat titik didih alkohol berada dalam kisaran suhu 78-80°C, sedangkan titik didih air mencapai 100°C. Uap yang terbentuk dari proses distilasi selanjutnya dialirkan ke dalam kondensor untuk mengalami pengembunan. Cairan yang telah mengembun kemudian ditampung dalam wadah Erlenmeyer (Al Muntazhor., 2020).

3.4.9 Pengukuran Kadar Etanol dengan Metode Berat Jenis menggunakan Piknometer

Analisis kadar etanol dalam sampel sabut kelapa hasil distilasi dilakukan dengan menggunakan piknometer. Sebelum digunakan, piknometer terlebih dahulu dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah itu, piknometer ditimbang menggunakan neraca analitik untuk memperoleh massa kosongnya. Distilat hasil proses distilasi kemudian dimasukkan ke dalam piknometer hingga penuh, dan kelebihan cairan pada bagian kapiler dibersihkan dengan hati-hati. Piknometer yang telah berisi distilat selanjutnya ditimbang kembali, dan massa totalnya dicatat. Prosedur yang sama dilakukan terhadap aquades sebagai sampel pembanding (Akbar *et al.*, 2019). Selain itu, suhu ruangan saat penimbangan turut dicatat untuk kepentingan koreksi data. Nilai gravitasi jenis (specific gravity/SG) etanol dihitung menggunakan rumus berikut (Azizah dkk., 2012):

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

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

3.4.10 Analisis Data

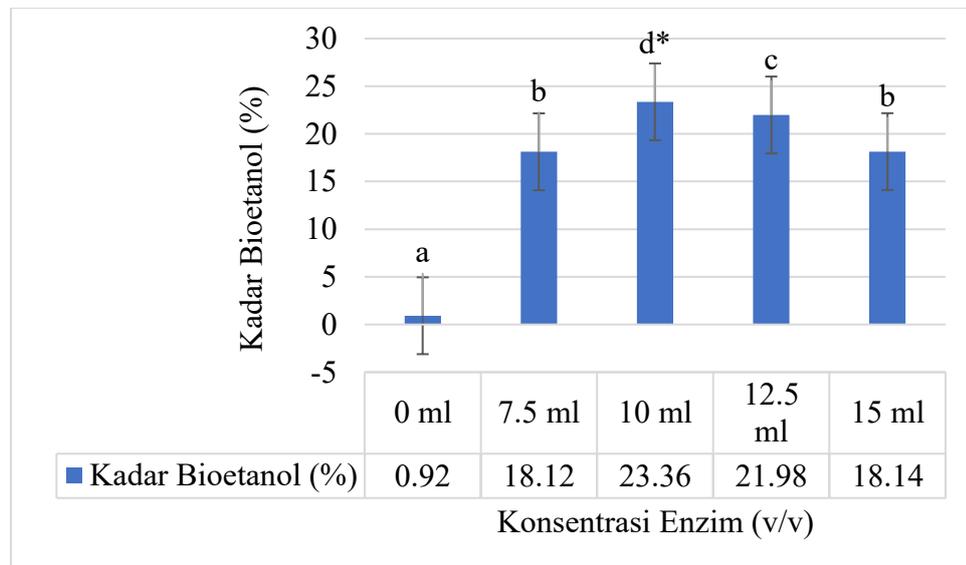
Data kadar etanol dari setiap sampel dianalisis menggunakan SPSS versi 23. Proses analisis dimulai dengan uji normalitas dan uji homogenitas. Jika hasil uji menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji two-way ANOVA (Analysis of Variance) pada tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$ untuk mengidentifikasi pengaruh konsentrasi ragi roti (b/v) dan variasi konsentrasi enzim selulase (v/v) terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari sabut kelapa. Apabila terdapat pengaruh yang signifikan, analisis dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5% untuk menentukan kombinasi konsentrasi ragi roti (b/v) dan variasi konsentrasi enzim selulase (v/v) yang menghasilkan kadar bioetanol tertinggi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Konsentrasi Enzim Selulase *Aspergillus niger* terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa.

Hasil pengujian statistik konsentrasi enzim selulase terhadap kadar bioetanol limbah sabut kelapa menggunakan ANOVA didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti ada pengaruh yang signifikan (nyata) antara konsentrasi enzim selulase terhadap kadar etanol. Selanjutnya, untuk menentukan perlakuan terbaik dari beberapa perlakuan konsentrasi enzim selulase yang diuji, dilakukan analisis lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat signifikansi 5% (0,05). Hasil uji DMRT beserta grafik yang menunjukkan pengaruh konsentrasi enzim selulase (v/v) terhadap kadar bioetanol disajikan pada Gambar 4.1.1 berikut.



Gambar 4.1.1 Grafik Pengaruh Konsentrasi Enzim Selulase terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa

Gambar 4.1.1 menunjukkan bahwa kadar bioetanol tertinggi dihasilkan dari perlakuan konsentrasi enzim 10 ml (v/v) dengan rata-rata kadar bioetanol sebesar 23,36%. Sedangkan kadar bioetanol terendah dihasilkan dari perlakuan enzim 0 ml dengan rata-rata kadar bioetanol 0,92%. Adapun kadar bioetanol yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi enzim 7,5 ml; 12,5 ml; 15 ml (v/v) masing-masing 18,12%; 21,98%; dan 18,14%. Hasil etanol dari konsentrasi enzim 10 ml (v/v) berbeda nyata terhadap hasil konsentrasi lainnya karena mempunyai notasi yang berbeda (d) dengan perlakuan lainnya. Begitu juga dengan hasil konsentrasi enzim 0 ml dan 12,5 ml (v/v) yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya karena memiliki notasi huruf yang berbeda (a dan c). Sedangkan hasil etanol dari konsentrasi enzim 7,5 ml dan 15 ml (v/v) tidak berbeda nyata karena memiliki notasi huruf yang sama (b).

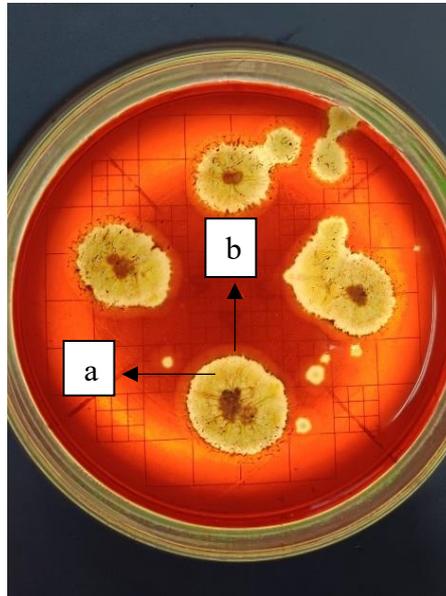
Hasil kadar etanol dari gambar 4.1.1 dapat diketahui bahwa pada perlakuan konsentrasi enzim 12,5 ml dan 15 ml (v/v), grafik mengalami penurunan yang berarti pada konsentrasi enzim tersebut tidak menambah kemampuan hidrolisis selulosa. Hal ini membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi enzim tidak menjamin peningkatan kadar etanol yang dihasilkan. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Retnoningtyas dkk., (2013) membuat bioetanol menggunakan *crude* enzim selulase dari tongkol jagung dengan variasi volume *crude* enzim 5 ml, 10 ml, 15 ml, dan 20 ml dihasilkan kadar bioetanol tertinggi pada volume *crude* enzim 10 ml sebesar 1,28%. Selain itu hasil penelitian yang dilakukan oleh Arif dkk., (2016) membuat bioetanol menggunakan substrat tongkol jagung dengan variasi konsentrasi enzim selulase : enzim xilanase 1:1% dan 2:2%, dihasilkan rata-rata kadar bioetanol tertinggi pada konsentrasi 1:1% sebesar

5,038%. Menurut Roukas., (1996), semakin tinggi konsentrasi enzim selulase yang ditambahkan, maka jumlah sisi aktif enzim yang dapat berinteraksi dengan substrat (selulosa) juga meningkat. Hal ini menyebabkan lebih banyak selulosa yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa. Namun, akumulasi glukosa yang terlalu tinggi dapat memicu inhibisi produk, di mana glukosa menempel pada sisi aktif enzim. Akibatnya, kemampuan enzim untuk berinteraksi dengan substrat selulosa menurun karena berkurangnya luas permukaan kontak antara enzim dan substrat.

Enzim selulase terdiri dari beberapa kelompok enzim yang berperan penting dalam menghidrolisis selulosa menjadi glukosa, termasuk biomassa lignoselulosa yang sebagian besar mengandung selulosa seperti sabut kelapa. Enzim selulase memainkan peran penting dalam konversi biomassa lignoselulosa menjadi glukosa melalui proses hidrolisis enzimatik. Beberapa komponen enzim selulosa yang utama adalah: endoglukanase, eksoglukanase (selobiohidrolase), dan β -glukosidase. Endoglukanase memutus ikatan β -1,4-glikosidik di bagian dalam rantai selulosa, menghasilkan fragmen oligosakarida. Eksoglukanase kemudian menghidrolisis ujung rantai oligosakarida tersebut menjadi selobiosa, yang selanjutnya dikonversi menjadi glukosa oleh β -glukosidase (lihat Gambar 2.8) (Dini & Munifah., 2014). Kombinasi ketiga enzim ini memungkinkan degradasi selulosa menjadi glukosa secara efisien.

Kemampuan enzim selulase dan mendegradasi selulosa dilakukan dengan menguji aktivitas selulolitik kapang *Aspergillus niger* secara semi-kuantitatif pada media CMC Agar 1% dan diinkubasi selama 4 hari untuk mengetahui potensi *Aspergillus niger* dalam membentuk enzim selulase. *Aspergillus niger* positif membentuk enzim selulase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar

koloni kapang yang tumbuh pada media CMC Agar 1% setelah dituang larutan *Congo Red* dan dicuci dengan NaCl 1M. Berdasarkan hasil yang diperoleh terdapat kapang yang membentuk zona bening sebagai berikut:



Gambar 4.1.2 Isolat *Aspergillus niger* pada Media CMC Agar yang Menampilkan Zona Bening. Keterangan: (a) Zona Koloni Kapang, (B) Zona Bening.

Munculnya zona bening pada media CMC menunjukkan adanya aktivitas enzim selulase yang menghidrolisis selulosa, sehingga area tersebut tidak dapat mengikat pewarna *Congo red*. Kondisi ini disebabkan karena CMC difungsikan sebagai sumber karbon utama dalam media, sehingga kapang memanfaatkan selulosa sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya. Temuan ini sejalan dengan penelitian Darwesh *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa penggunaan CMC sebagai sumber karbon utama dapat menjadi indikator terjadinya proses degradasi selulosa.

Zona bening terbentuk karena *Congo red* memiliki afinitas tinggi terhadap polisakarida, terutama yang memiliki ikatan β -1,4 seperti yang terdapat dalam struktur CMC. Liu *et al.*, (2018) menjelaskan bahwa *Congo red* mampu membentuk

ikatan spesifik dengan polisakarida tersebut. Namun, ketika selulosa mengalami degradasi oleh enzim selulase menjadi gula-gula sederhana seperti monosakarida maka tidak terjadi ikatan kompleks dengan *Congo red*, sehingga area tersebut tidak menunjukkan warna merah (Restu Nugraha *et al.*, 2014). Selain itu, zona bening menjadi lebih jelas setelah proses pencucian dengan larutan NaCl 1M. Hal ini disebabkan oleh kemampuan NaCl melarutkan pewarna *Congo red* dari media, mengingat senyawa ini merupakan garam natrium benzenediazo-bis-1-naphthylamine-4 sulfonat ($C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$) (Yusnia *et al.*, 2019).

Zona bening pada media kemudian dihitung indeks selulolitiknya untuk mengetahui kemampuan kapang dalam mengurai selulosa. Hasil perhitungan rata-rata indeks selulolitik *Aspergillus niger* pada media CMC Agar 1% adalah 1,4651. Menurut Rahardiyana & Moko., (2023) indeks selulolitik <1 tergolong rendah, sedangkan 1< dan <2 tergolong sedang dan >2 tergolong tinggi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sabrini dkk., (2021), menunjukkan bahwa biakan kapang *Aspergillus niger* yang ditumbuhkan pada media CMC agar 1% menunjukkan rata-rata indeks selulolitik sebesar 1,49. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Rizal., (2024) melakukan uji selulolitik pada dugaan kapang *Aspergillus niger* yang dilakukan pada media CMC agar menunjukkan hasil indeks selulolitik sebesar 1,00. Penelitian yang dilakukan oleh Hardianty dkk., (2013) melakukan uji selulolitik pada isolat kapang *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Mucor* dan 2 isolat tanpa identitas yang ditumbuhkan pada media CMC Agar menunjukkan aktivitas selulolitik tertinggi pada isolat kapang *Aspergillus* dengan indeks selulolitik 3,51. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Hidayat & Isnawati., (2021) melakukan uji selulolitik pada isolat kapang dugaan genus *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, dan

Penicillium pada media CMC agar menunjukkan aktivitas selulolitik tertinggi pada isolat kapang dugaan genus *Aspergillus* dengan indeks selulolitik sebesar 1,80.

Kapang *Aspergillus niger* yang telah diuji kemampuan degradasi selulosanya selanjutnya dibuat suspensi sporanya sebagai agen untuk produksi enzim selulase. Pembuatan suspensi spora menggunakan larutan *tween 80* 0,1% dan dihitung hingga kepadatan spora mencapai $\sim 10^7$ spora/ml. Hasil penelitian oleh Darwesh *et al.* (2020) menyatakan bahwa konsentrasi spora $\sim 10^7$ spora/ml dapat memungkinkan pertumbuhan kapang yang optimal dan produksi enzim yang cukup untuk mendegradasi biomassa lignoselulosa. Konsentrasi spora yang terlalu rendah dapat menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme yang lambat, sementara konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kompetisi nutrisi dan akumulasi metabolit yang menghambat pertumbuhan. Konsentrasi $\sim 10^7$ spora/mL merupakan konsentrasi spora yang memungkinkan pertumbuhan mikroorganisme yang stabil dan efisien untuk fermentasi (Ashraf *et al.*, 2023).

Suspensi spora yang telah dibuat selanjutnya digunakan sebagai agen dalam produksi *crude* enzim selulase kasar. Proses produksi *crude* enzim selulase dilakukan inkubase selama 7 hari menggunakan inkubator shaker pada suhu ruang dan pH substrat 5. Selanjutnya, *crude* enzim selulase diekstrak dan dilakukan pengujian untuk mengetahui aktivitas enzim selulase kasar. Langkah pertama dalam uji aktivitas enzim adalah membuat larutan standar glukosa yang dihitung masing-masing absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm, lalu dibuat kurva standar glukosanya.

Kurva standar glukosa disusun dengan menggunakan variasi konsentrasi glukosa yang mencakup 0, 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm. Glukosa dipilih

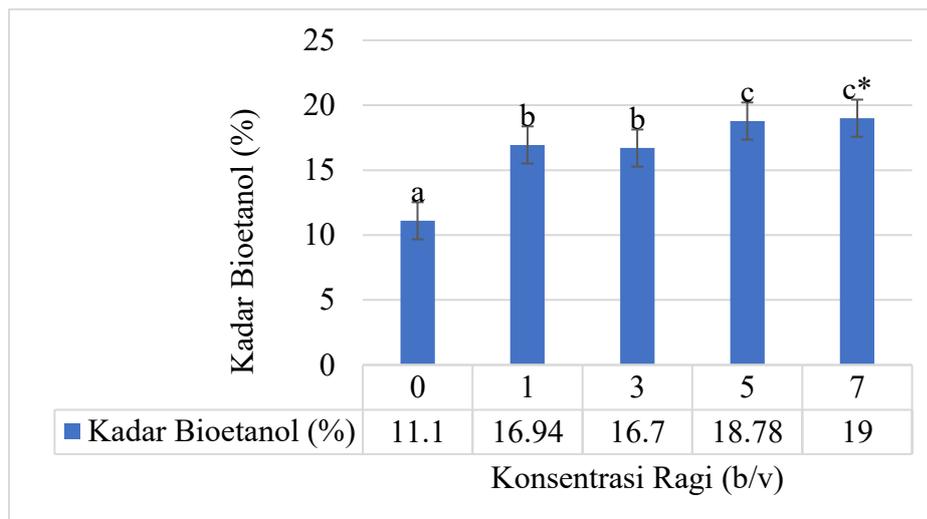
sebagai larutan standar karena merupakan jenis gula pereduksi yang terbentuk melalui proses hidrolisis selulosa oleh enzim selulase. Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh persamaan linier $y = 0,0031x + 0,0658$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9781 (Lampiran 3 No. 3). Persamaan ini digunakan untuk menghitung konsentrasi gula reduksi yang terbentuk selama proses enzimatik. Nilai konsentrasi gula reduksi diperoleh dengan menggantikan nilai absorbansi dari ekstrak kasar enzim selulase ke dalam persamaan regresi tersebut.

Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan mengukur sampel (enzim) dan kontrol menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Hasil pengukuran tersebut kemudian disubstitusikan sebagai nilai y dalam persamaan regresi dan dimasukkan dalam rumus aktivitas enzim (Lampiran 3 No. 4). Dari pengujian aktivitas enzim, diperoleh data bahwa sampel enzim selulase kasar *Aspergillus niger* pada substrat sabut kelapa menunjukkan aktivitas enzim sebesar 3.607503 U/ml. Hasil ini mengindikasikan bahwa produksi enzim *Aspergillus niger* yang diinkubasi pada substrat sabut kelapa selama 7 hari dengan pH substrat 5 pada suhu ruang memiliki potensi untuk mengkatalisis substrat selulase menjadi gula pereduksi. Penelitian yang dilakukan oleh Agustina., (2018) mengenai hidrolisis alang-alang menggunakan *Aspergillus niger* melaporkan aktivitas enzim selulase pada hari ke-7 sebesar 3,97 U/mL. Hasil serupa juga ditemukan oleh Devi dan Kumar., (2012), yang melakukan penelitian aktivitas selulase *Aspergillus niger* pada substrat limbah industri kertas, dimana aktivitas enzim tertinggi tercatat pada pH 5, yaitu sebesar 3,9 U/mL. Uji aktivitas enzim selulase pada penelitian ini menunjukkan bahwa sampel enzim mampu menghidrolisis substrat sabut kelapa menjadi gula pereduksi berupa glukosa. Gula pereduksi adalah jenis monosakarida

yang memiliki gugus aldehid atau keton, yang berperan sebagai agen pereduksi terhadap senyawa pengoksidasi. Dalam metode pengujian ini, gugus aldehid pada glukosa bereaksi dengan asam dinitrosalisilat (DNS), yang bertindak sebagai oksidator, membentuk senyawa 3-amino-5-nitrosalisilat, yang ditandai dengan munculnya warna jingga kemerahan. Intensitas warna ini kemudian diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer melalui analisis kolorimetri. (Murtiyaningsih & Hazmi., 2017).

4.2 Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa.

Hasil analisis statistik terhadap pengaruh konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) (b/v) terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari limbah sabut kelapa menggunakan uji ANOVA, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,271 ($p > 0,05$). Nilai tersebut menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi ragi roti terhadap kadar bioetanol tidak signifikan secara statistik. Untuk mengidentifikasi perlakuan terbaik di antara variasi konsentrasi ragi yang diuji, dilakukan analisis lanjutan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$). Hasil uji DMRT beserta grafik yang menggambarkan pengaruh konsentrasi ragi roti terhadap kadar bioetanol disajikan pada gambar berikut.



Gambar 4.2 Grafik Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi ragi sebanyak 7 gram (b/v) menghasilkan kadar bioetanol tertinggi, yaitu rata-rata sebesar 19%. Sebaliknya, perlakuan tanpa penambahan ragi (0 gram) menghasilkan kadar bioetanol terendah dengan rata-rata sebesar 11,1%. Sementara itu, perlakuan dengan penambahan ragi sebanyak 1 gram, 3 gram, dan 5 gram menghasilkan kadar bioetanol berturut-turut sebesar 16,94%, 16,7%, dan 18,78%. Berdasarkan grafik tersebut, kadar bioetanol yang dihasilkan pada perlakuan 7 gram dan 5 gram ragi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik karena keduanya memiliki notasi huruf yang sama (c). Demikian pula, kadar bioetanol pada perlakuan ragi 1 gram dan 3 gram juga tidak berbeda nyata, ditunjukkan dengan notasi huruf yang sama (b). Sedangkan rata-rata kadar bioetanol yang dihasilkan dari perlakuan ragi 0 gram (11,1%) berbeda nyata karena memiliki notasi yang berbeda dengan perlakuan konsentrasi ragi lain (a).

Berdasarkan data dari gambar 4.2 dapat diketahui bahwa konsentrasi ragi yang berbeda memberikan pengaruh terhadap kadar etanol yang dihasilkan meskipun

tidak signifikan. Jika konsentrasi ragi roti yang digunakan meningkat, maka populasi sel khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang terlibat dalam fermentasi glukosa menjadi etanol juga bertambah, sehingga produksi etanol yang dihasilkan cenderung lebih tinggi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Maryana dkk., (2020) membuat bioetanol menggunakan substrat ampas tebu dengan variasi konsentrasi ragi roti 0,4%, 0,6%, dan 0,8%, dihasilkan rata-rata kadar bioetanol tertinggi pada konsentrasi ragi 0,8% gram sebesar 14,61%.

Walaupun hasil menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ragi roti tertinggi yaitu 7 gram (b/v), menghasilkan rata-rata kadar etanol yang paling tinggi (19%), namun hasilnya tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi ragi 5 gram (b/v) yang menghasilkan rata-rata kadar etanol 18,78%. Hal ini membuktikan bahwa perlakuan konsentrasi ragi 5 gram (b/v) sudah cukup untuk menghasilkan produk bioetanol yang optimal. Penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa produksi bioetanol dari substrat ampas tebu dengan variasi konsentrasi ragi sebesar 1 gram, 3 gram, dan 5 gram serta waktu fermentasi selama 5 hingga 9 hari menghasilkan kadar etanol tertinggi sebesar 4,91% pada kombinasi penggunaan ragi sebanyak 5 gram dan lama fermentasi selama 7 hari. Sementara itu, studi yang dilakukan oleh Jannah *et al.*, (2022) menggunakan substrat sabut kelapa dengan konsentrasi ragi 5 gram dan waktu fermentasi yang sama, yaitu 7 hari, berhasil menghasilkan kadar etanol yang jauh lebih tinggi, yaitu sebesar 42,63%.

Hasil etanol pada gambar 4.2 menunjukkan kadar etanol yang dihasilkan dari konsentrasi ragi roti 1 gram (b/v) yaitu sebesar 16,94%, lebih tinggi dibandingkan kadar etanol yang dihasilkan dari konsentrasi ragi roti 3 gram (b/v) yaitu sebesar

16,7% meski tidak berbeda nyata. Penulis berasumsi hal ini dikarenakan penguapan etanol yang tidak terkendali saat proses fermentasi sehingga etanol ikut menguap bersama karbondioksida (lihat gambar lampiran 1). Laju fermentasi yang tinggi dapat terjadi akibat penambahan ragi dalam jumlah besar dan dapat meningkatkan produksi CO₂. Peningkatan produksi CO₂ ini dapat membawa uap etanol keluar dari sistem fermentasi, terutama jika fermentasi dilakukan dalam sistem terbuka atau tanpa kondensor. Oleh karena itu penggunaan sistem fermentasi tertutup dan kontrol suhu yang ketat diperlukan untuk mengurangi kehilangan etanol melalui penguapan (Dey & Saggi., 2016).

Hasil etanol pada gambar 4.2 menunjukkan perlakuan konsentrasi ragi roti 0 gram (b/v) tetap menghasilkan etanol sebesar 11,1%. Menurut Ahmed *et al.*, (2018), hal ini disebabkan karena sebagian biomassa lignoselulosa mengandung berbagai mikroorganisme lignoselulolitik alami yang berpotensi dalam proses degradasi lignin dan produksi bioetanol. Selain itu, studi yang dilakukan oleh Widiyanti., (2017) menunjukkan bahwa kapang *Aspergillus niger* dapat mengkonsumsi glukosa sebagai sumber karbon yang dihasilkan dari hidrolisis selulosa. Kemampuan ini dapat berkontribusi terhadap produksi bioetanol pada perlakuan tanpa ragi.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi limbah sabut kelapa. Meskipun secara deskriptif terlihat adanya peningkatan kadar bioetanol pada konsentrasi ragi 1–7 g (b/v), perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya efek jenuh, di mana konsentrasi ragi yang

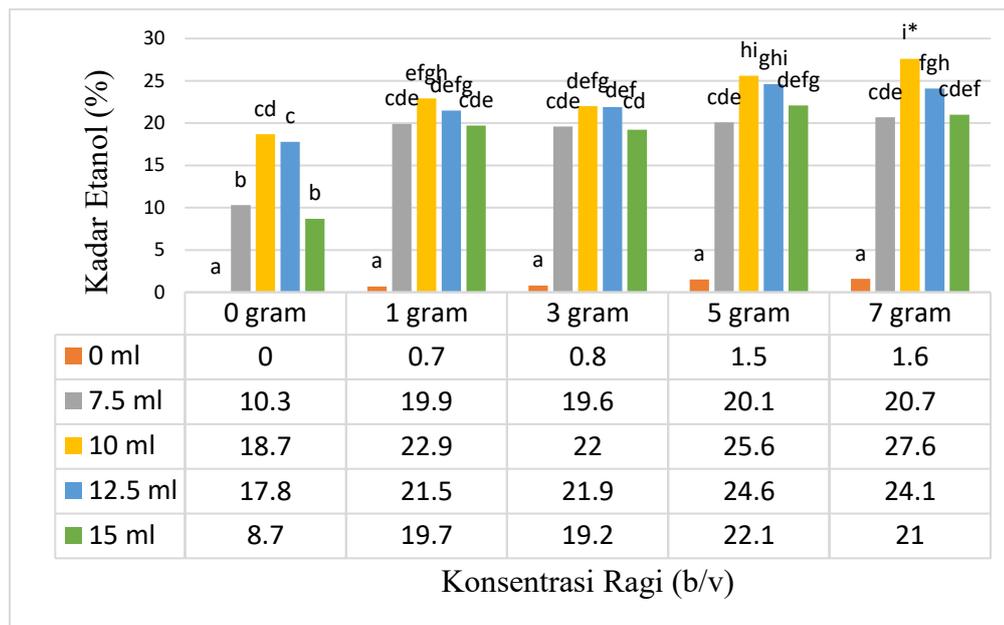
lebih tinggi tidak secara proporsional meningkatkan produksi etanol akibat keterbatasan substrat yang tersedia untuk difermentasi. Menurut Fadel *et al.*, (2013), peningkatan konsentrasi ragi hanya efektif hingga titik tertentu, karena pada kondisi kelebihan sel ragi dapat terjadi kompetisi internal yang menghambat efisiensi fermentasi. Selain itu, kondisi lingkungan seperti suhu, pH, dan konsentrasi oksigen juga berperan penting dalam menentukan efektivitas metabolisme ragi. Jika kondisi tersebut tidak optimal, aktivitas fermentasi tidak dapat dimaksimalkan meskipun konsentrasi ragi ditingkatkan.

Khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang terdapat pada ragi roti dapat menghasilkan produk etanol dengan kemampuan fermentasinya. Menurut Pelczar & Chan., (2013), Ragi roti mengandung strain *Saccharomyces cerevisiae* yang telah mengalami proses seleksi, mutasi, atau hibridisasi untuk mengoptimalkan kemampuannya dalam memfermentasi gula secara efisien dalam adonan, serta memiliki laju pertumbuhan yang cepat. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemampuan untuk memfermentasi glukosa menjadi etanol berkat aktivitas enzimatis yang dimilikinya, yakni enzim zimase dan invertase. Enzim zimase berfungsi untuk menghidrolisis sukrosa menjadi monosakarida, yaitu glukosa dan fruktosa, sedangkan enzim invertase berperan dalam mengubah glukosa menjadi bioetanol (Judoamidjojo *et al.*, 1992 dalam Nasrun dkk., 2017). Proses konversi glukosa menjadi etanol dimulai dengan jalur glikolisis *Embden-Meyerhof*, yang menghasilkan asam piruvat (lihat Gambar 2.8). Proses ini juga dapat dimulai dari fruktosa, yang terlebih dahulu diubah menjadi fruktosa-1-fosfat oleh enzim fruktokinase. Fruktosa-1-fosfat kemudian dipecah oleh enzim aldolase menjadi dua molekul triosa, yaitu gliseraldehida dan dihidroksiaseton fosfat. Kedua senyawa ini

kemudian mengikuti jalur glikolisis yang sama dengan glukosa, menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat selanjutnya dikatalisis oleh enzim piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehida, yang kemudian direduksi oleh enzim alkohol dehidrogenase menjadi etanol. Dengan adanya peran enzim-enzim ini, *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengubah gula invert (glukosa dan fruktosa) menjadi etanol serta karbon dioksida.

4.3 Pengaruh Interaksi antara Konsentrasi Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Konsentrasi Enzim Selulase *Aspergillus niger* terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa

Hasil analisis statistik mengenai interaksi antara konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan konsentrasi enzim selulase terhadap kadar bioetanol dari limbah sabut kelapa menggunakan uji two-way ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya pengaruh yang signifikan (nyata) dari interaksi antara konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan konsentrasi enzim selulase terhadap kadar etanol. Untuk menentukan perlakuan terbaik di antara berbagai kombinasi yang diuji, dilakukan analisis lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat signifikansi 5% (0,05). Hasil uji DMRT beserta grafik yang menggambarkan pengaruh interaksi antara konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan konsentrasi enzim selulase terhadap kadar bioetanol disajikan pada gambar berikut.



Gambar 4.3.1 Grafik Pengaruh Interaksi antara Konsentrasi Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Konsentrasi Enzim Selulase terhadap Kadar Bioetanol Limbah Sabut Kelapa

Gambar 4.3.1 menunjukkan bahwa kadar bioetanol tertinggi dihasilkan dari interaksi antara Konsentrasi enzim 10 ml (v/v) dan konsentrasi ragi roti 7 gram (b/v), dengan kadar bioetanol sebesar 27,6 %. Perlakuan tersebut berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya karena mempunyai notasi statistik yang berbeda (i) dengan perlakuan lainnya. Sedangkan perlakuan dengan kombinasi enzim 0 ml dan ragi 0 gram menghasilkan kadar bioetanol terendah sebesar 0%, menandakan tidak adanya proses hidrolisis maupun fermentasi yang berlangsung karena tidak ditamhkannya ragi maupun enzim terhadap substrat. Perlakuan enzim 0 ml dan ragi 0 gram memiliki notasi statistik yang sama dengan perlakuan enzim 0 ml lainnya (a), namun yang membedakan adalah kadar etanol semakin tinggi seiring bertambahnya ragi pada konsentrasi 0 ml meskipun tidak berbeda signifikan/nyata. Kombinasi perlakuan lainnya yang menunjukkan notasi statistik "cd", "defg", "ghi", dll, artinya tidak berbeda nyata dengan perlakuan lain yang memiliki salah satu

huruf yang sama. Perlakuan dengan notasi "defg" tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang memiliki huruf "d", "e", "f", atau "g". Dengan kata lain, semakin jauh hurufnya dari "a", semakin tinggi kadar etanolnya dan semakin signifikan perbedaannya dibandingkan perlakuan lain yang lebih rendah.

Perbedaan kadar bioetanol yang dihasilkan dapat dijelaskan melalui karakteristik dan fungsi masing-masing faktor. Ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroorganisme yang banyak digunakan dalam proses fermentasi karena kemampuannya yang efisien dalam mengubah glukosa menjadi etanol. Konsentrasi ragi yang cukup akan meningkatkan populasi sel fermentatif, mempercepat proses fermentasi, dan pada akhirnya meningkatkan hasil etanol. Namun, jika konsentrasi ragi terlalu sedikit, proses fermentasi menjadi tidak optimal, sedangkan jumlah yang terlalu banyak dapat menyebabkan kompetisi nutrisi dan penurunan efisiensi fermentasi. Hal ini dapat terlihat pada grafik perlakuan konsentrasi enzim 7.5 ml; 10 ml; dan 15 ml (v/v) yang grafik ketiganya mengalami penurunan pada konsentrasi ragi 3 gram (b/v) yaitu dari 19,9% menjadi 19,6%; 22,9% menjadi 22%; dan 19,7% menjadi 19,2%. Selain itu pada perlakuan konsentrasi enzim 12,5 ml dan 15 ml (v/v) grafiknya mengalami penurunan pada konsentrasi ragi 7 gram (b/v) yaitu dari 24,6% menjadi 24,1% dan dari 22,1% menjadi 21%. Penelitian oleh Al-Judaibi (2011) juga mendukung temuan ini, di mana peningkatan konsentrasi sel ragi di atas $3,6 \times 10^5$ sel/100 mL justru menurunkan hasil etanol. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ragi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan efek negatif pada efisiensi fermentasi.

Selain konsentrasi ragi roti, konsentrasi enzim selulase juga berperan penting terhadap optimalisasi produksi bioetanol. Peningkatan konsentrasi enzim selulase

secara langsung berkontribusi terhadap ketersediaan glukosa untuk fermentasi. Namun demikian, jika hasil hidrolisis selulase (glukosa) meningkat tetapi konsentrasi ragi tidak memadai untuk memfermentasinya secara efisien, maka sebagian glukosa akan terbuang atau tidak terkonversi menjadi etanol. Ini menyebabkan peningkatan enzim tidak serta merta meningkatkan kadar etanol. Dalam Gambar 4.3.1, bisa dilihat pada kombinasi 10 ml enzim dan 1 gram ragi yang menghasilkan kadar etanol lebih tinggi yaitu sejumlah 22,9% dibanding kombinasi 15 ml enzim dan 1 gram ragi yang menghasilkan kadar etanol sejumlah 19,7%. Hal serupa juga bisa dilihat pada kombinasi 10 ml enzim dan 3 gram ragi yang menghasilkan kadar etanol lebih tinggi yaitu sejumlah 22% dibanding kombinasi 15 ml enzim dan 3 gram ragi yang menghasilkan kadar etanol sejumlah 19,2%.

Optimasi kombinasi antara konsentrasi enzim selulase dan konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) terbukti dapat meningkatkan efisiensi konversi biomassa menjadi etanol secara sinergis. Enzim selulase yang berasal dari *Aspergillus niger* mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa, yang kemudian segera difermentasi menjadi etanol oleh ragi, terutama jika populasi ragi cukup tinggi. Efektivitas ini didukung oleh penelitian Zhang *et al.*, (2018), yang menyatakan bahwa sinergi antara hidrolisis enzimatik dan fermentasi oleh *S. cerevisiae* sangat efisien dalam memproduksi bioetanol dari biomassa lignoselulosa melalui proses SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*).

Sebelum dilakukan proses SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*), biomassa lignoselulosa perlu melalui proses *pretreatment* guna meningkatkan ketersediaan selulosa. *Pretreatment* diawali dengan reduksi ukuran

sabut kelapa (± 100 mesh), diikuti oleh delignifikasi menggunakan larutan NaOH 10% untuk menguraikan lignin. Proses delignifikasi bertujuan untuk memecah lignin guna meningkatkan aksesibilitas selulosa, sehingga mempermudah proses hidrolisis. Dinca *et al.* (2017) menjelaskan bahwa *pretreatment* alkali menggunakan basa seperti natrium, kalium, kalsium, dan amonium hidroksida sebagai langkah awal dalam pengolahan biomassa lignoselulosa. Perlakuan ini membantu memecah ikatan ester dan glikosidik pada rantai samping lignin, yang pada gilirannya menyebabkan perubahan pada struktur lignin, perkembangan struktur selulosa, dekrystalisasi sebagian selulosa, serta pelarutan sebagian hemiselulosa. Sasmal dan Mohanty., (2018) menambahkan bahwa reaksi utama yang terjadi dalam *pretreatment* alkali adalah pemisahan lignin dari komponen gula (selulosa dan hemiselulosa) melalui reaksi saponifikasi antar-molekul ester. Selain itu, *pretreatment* alkali memiliki keuntungan, antara lain dapat dilakukan pada suhu yang relatif rendah dibandingkan dengan metode *pretreatment* lainnya, serta memiliki kemampuan untuk bereaksi secara selektif terhadap lignin tanpa memberikan dampak signifikan terhadap struktur karbohidrat. Karakteristik ini sejalan dengan tujuan utama dalam produksi biofuel, yakni memaksimalkan ketersediaan gula sebagai substrat fermentasi. Hasil yang diharapkan dari tahap delignifikasi meliputi penurunan kadar lignin, pelarutan sebagian hemiselulosa, dan penurunan tingkat kristalinitas selulosa, sehingga meningkatkan efisiensi proses hidrolisis selanjutnya.

Konsentrasi alkali dan suhu saat delignifikasi berpengaruh terhadap efektifitas proses delignifikasi. Penggunaan larutan natrium hidroksida (NaOH) 6% pada suhu 80°C sering disarankan karena kombinasi ini terbukti efektif dalam

mengoptimalkan proses delignifikasi. Hasil penelitian Permatasari *et al.*, (2014) melaporkan bahwa penggunaan NaOH 6% pada suhu 80°C optimal dalam menurunkan kadar lignin serbuk bambu hingga 10,45%. Hasil penelitian Suprianto *et al.*, (2014), menyatakan bahwa kadar α -selulosa diperoleh sebesar 88–90% pada delignifikasi tongkol jagung dengan NaOH 1,25–2 N pada suhu 85–95°C. Penggunaan NaOH 6% juga efektif melarutkan lignin tanpa merusak karbohidrat. Proses delignifikasi dengan suhu yang rendah dapat mengurangi risiko degradasi termal selulosa dan hemiselulosa, serta menurunkan konsumsi energi. Selain itu, konsentrasi NaOH 6% cukup efektif untuk memecah struktur lignin tanpa menyebabkan kerusakan signifikan pada fraksi karbohidrat.

Proses dilanjutkan dengan *bleaching* menggunakan NaOCl 5% untuk menghilangkan lignin sisa, meningkatkan kemurnian selulosa, serta mempermudah akses enzim selama hidrolisis. Arnata *et al.* (2019) mencatat bahwa kombinasi delignifikasi dan *bleaching* dapat meningkatkan kemurnian selulosa hingga 68,42%. Proses *bleaching* ini juga mengubah warna biomassa menjadi lebih terang karena oksidasi lignin dan pengurangan gugus kromofor penyerap cahaya (lihat gambar 4.3.2) (Bajpai *et al.*, 2006). Pengurangan lignin dan hemiselulosa melalui proses *bleaching* meningkatkan aksesibilitas enzim terhadap serat selulosa selama proses hidrolisis enzimatik. Dengan demikian, efisiensi konversi selulosa menjadi gula fermentasi meningkat.



Gambar 4.3.2 Perubahan Warna pada Sabut Kelapa. Keterangan:
(a) Sebelum *Pretreatment* (b) Setelah *Pretreatment*

Setelah dilakukan *pretreatment* pada substrat, maka langkah selanjutnya adalah proses fermentasi. Proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) yang menggabungkan tahap hidrolisis selulosa menjadi glukosa dan fermentasi glukosa menjadi etanol dalam satu reaktor. Proses fermentasi dilakukan selama 7 hari pada suhu ruang dan pH 5. Menurut Dey & Saggi., (2016), Glukosa yang dihasilkan dalam proses SSF segera dikonsumsi oleh mikroorganisme fermentatif seperti *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga konsentrasi glukosa dalam sistem tetap rendah. Hal ini mengurangi efek inhibisi terhadap enzim selulase dan meningkatkan efisiensi konversi selulosa menjadi etanol. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jayus dkk., (2017) yang menunjukkan hasil etanol dengan metode SSF sebesar 2,93 g/l dalam waktu 18 jam, sedangkan pada metode SHF menghasilkan kadar etanol sebesar 2,58 g/l dan 2,15 g/l dalam waktu 48 jam. Penelitian yang dilakukan oleh Dahnum *et al.* (2015) menunjukkan bahwa metode SSF menghasilkan kadar etanol sebesar 6,05% dalam waktu 24 jam, sementara metode SHF menghasilkan kadar etanol sebesar 4,74% setelah 72 jam. Meskipun demikian, kadar etanol yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, mengingat kompleksitas tahapan dalam proses produksi. Faktor-faktor tersebut

meliputi kandungan lignin, hemiselulosa, dan selulosa dalam biomassa, pemilihan *pretreatment* bahan yang tepat, kondisi fermentasi seperti pH, suhu, dan durasi, serta proses destilasi etanol yang tepat.

4.4 Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Produksi bioetanol menggunakan bahan alternatif yang kurang dimanfaatkan seperti sabut kelapa sebagai bahan pengganti bahan bakar fosil merupakan usaha manusia untuk menemukan sumber energi yang lebih baik agar penggunaan energi fosil dapat lebih terkontrol dan ketersediaannya tetap terjaga. Al-Qur'an juga mengajarkan umat manusia untuk mengganti sesuatu yang lebih baik sebagaimana telah dijelaskan pada firman Allah Surah Al-Baqarah ayat 106 yang berbunyi:

مَا نَنْسَخْ مِنْ آيَةٍ أَوْ نُنسِهَا نَأْتِ بِخَيْرٍ مِّنْهَا أَوْ مِثْلَهَا ۗ أَلَمْ تَعْلَمْ أَنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿١٠٦﴾

Artinya: “Ayat yang Kami nasakh (batalan) atau Kami jadikan (manusia) lupa padanya, pasti Kami ganti dengan yang lebih baik atau yang sebanding dengannya. Apakah engkau tidak mengetahui bahwa Allah Mahakuasa atas segala sesuatu?” (Q.S: Al Baqarah [2]:106)

Menurut Lajnah Pentashih Mushaf Al-Qur'an Departemen Agama RI., (2009), ayat ini merupakan jawaban terhadap tuduhan kaum musyrik yang menuduh Nabi Muhammad ﷺ tidak konsisten karena adanya perubahan dalam wahyu. Mereka menyatakan bahwa Nabi menyuruh para sahabatnya melakukan sesuatu, kemudian menyuruh mereka melakukan sebaliknya. Allah menanggapi tuduhan ini dengan menegaskan bahwa setiap ayat yang dihapus atau dilupakan akan diganti dengan yang lebih baik atau sebanding, sesuai dengan hikmah dan kebijaksanaan-Nya.

Dalam konteks penelitian tentang produksi bioetanol dari sabut kelapa sebagai energi alternatif, ayat ini memberikan landasan bahwa mencari dan

mengembangkan alternatif yang lebih baik dari yang sudah ada adalah sesuai dengan prinsip yang diajarkan dalam Al-Qur'an. Implementasi *Muamalah Ma Allah* pada Ayat tersebut menutup dengan penegasan bahwa "Allah Mahakuasa atas segala sesuatu." Ketika manusia berikhtiar mengembangkan energi alternatif, sebenarnya ia juga sedang mengakui bahwa ilmu dan perubahan berasal dari izin dan kuasa Allah. Hal ini mencerminkan ketundukan manusia terhadap takdir dan kehendak Allah dalam mengatur kehidupan. Penggantian bahan bakar fosil yang memiliki dampak negatif terhadap lingkungan dengan bioetanol yang lebih ramah lingkungan mencerminkan usaha manusia dalam mengikuti sunnatullah, yaitu berusaha untuk selalu mencari solusi yang lebih baik dan bermanfaat bagi kehidupan.

Dengan demikian, ayat ini tidak hanya memberikan pemahaman tentang konsep nasakh dalam hukum Islam, tetapi juga menginspirasi umat manusia untuk terus berinovasi dan mencari alternatif yang lebih baik dalam berbagai aspek kehidupan, termasuk dalam bidang energi dan lingkungan (*Muamalah Ma Alam*). Penggunaan sabut kelapa sebagai bahan baku bioetanol menunjukkan adanya upaya untuk mengurangi ketergantungan terhadap bahan bakar fosil yang selama ini menjadi penyebab utama pencemaran udara, pemanasan global, dan kerusakan lingkungan. Tindakan ini merupakan wujud interaksi positif manusia terhadap alam dengan memanfaatkan sumber daya alam yang terbarukan dan tidak merusak keseimbangannya.

Upaya Usaha mengganti bahan bakar fosil dengan bioetanol dari sabut kelapa menciptakan peluang usaha dan lapangan kerja, khususnya bagi masyarakat di daerah penghasil kelapa. Hal ini mencerminkan hubungan antar manusia

(*Muamalah Ma Annas*) dalam bentuk pemberdayaan ekonomi, yaitu membantu masyarakat untuk lebih mandiri dan sejahtera melalui pemanfaatan potensi lokal. Selain itu, dengan menyediakan energi alternatif yang lebih terjangkau dan dapat diakses oleh masyarakat pedesaan, upaya ini juga mengarah pada pemerataan akses energi. Ini merupakan wujud nyata dari keadilan sosial, yaitu memberikan kesempatan dan fasilitas yang sama kepada seluruh lapisan masyarakat, termasuk yang kurang tersentuh infrastruktur energi konvensional.

Dalam proses produksi bioetanol dari biomassa lignoselulosa seperti sabut kelapa, diperlukan proses *pretreatment* dan delignifikasi yang sangat penting untuk memastikan hasil yang optimal. Sebagaimana halnya dalam proses konversi bahan organik, yang memerlukan beberapa tahapan untuk mencapai hasil yang maksimal, Al-Qur'an juga mengajarkan umat manusia tentang pentingnya usaha dan perencanaan dalam mencapai hasil yang baik yang dimana telah dijelaskan pada firman Allah surah Al-Insyirah ayat 5-6 yang berbunyi:

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٥﴾ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾

Artinya: “Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan.” (Q.S: Al Insyirah [94]:5-6)

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir al-misbah, kata "al-‘usri" (الْعُسْرُ) (kesulitan) dalam ayat ini merujuk pada kesulitan yang dialami oleh Nabi Muhammad SAW dalam menyampaikan dakwah kepada kaumnya yang ingkar dan menentang. Sedangkan "al-yusra" (يُسْرًا) (kemudahan) mengacu pada kelapangan dan pertolongan Allah yang datang setelah kesulitan tersebut.

Kata "kesulitan" pada penelitian ini merujuk pada proses-proses yang perlu dilakukan untuk mengubah sabut kelapa menjadi bioetanol seperti delignifikasi,

bleaching, fermentasi, dan destilasi. Biomassa lignoselulosa, yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin, memerlukan perlakuan khusus untuk memecah struktur kerasnya sebelum bisa diubah menjadi etanol melalui fermentasi. Proses delignifikasi dan *bleaching* membutuhkan teknologi dan upaya yang tidak sedikit, serta pemahaman mendalam tentang sifat material biomassa dan proses biokimia yang terlibat. Inilah yang bisa dianggap sebagai “kesulitan” dalam proses konversi biomassa lignoselulosa menjadi bioetanol. Namun setelah menghadapi “kesulitan” tersebut, akan ada “kemudahan”. Dalam hal ini, kemudahan muncul setelah melalui proses *pretreatment* yang efektif, di mana substrat biomassa lignoselulosa menjadi lebih mudah untuk dicerna oleh enzim selulase sehingga dapat menghasilkan gula-gula sederhana yang kemudian dapat difermentasi menjadi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

Ayat tersebut mengajarkan manusia untuk bertawakal dan tidak berputus asa dalam menghadapi tantangan ilmiah, karena semua yang diciptakan Allah pasti memiliki manfaat jika diteliti dengan baik. Selain itu, meskipun dalam proses pembuatannya terdapat beberapa “kesulitan” namun kesulitan tersebut dapat berubah menjadi kemudahan karena proses ini juga membuka peluang dalam pemberdayaan ekonomi masyarakat, khususnya di daerah penghasil kelapa, melalui pemanfaatan limbah sabut kelapa yang sebelumnya tidak termanfaatkan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, dapat dibuat kesimpulan sebagai berikut:

1. Konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* (v/v) berpengaruh nyata/signifikan terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa. Perlakuan yang optimal diperoleh dari konsentrasi enzim 10 ml dengan kadar etanol sebesar 23,36%.
2. Konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) (b/v) tidak berpengaruh nyata/signifikan terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa. Perlakuan yang optimal diperoleh dari konsentrasi ragi 7 gram (b/v) dengan kadar etanol sebesar 19%.
3. Interaksi antara konsentrasi enzim selulase *Aspergillus niger* (v/v) dan konsentrasi ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) (b/v) berpengaruh nyata/signifikan terhadap kadar etanol yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification Fermentation* (SSF) dengan substrat sabut kelapa. Perlakuan yang optimal diperoleh dari interaksi antara konsentrasi konsentrasi ragi 7 gram (b/v) dan konsentrasi enzim 10 ml (v/v) dengan kadar etanol sebesar 27,6%.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini antara lain:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan meningkatkan konsentrasi ragi lebih dari 7 gram dan konsentrasi enzim lebih dari 15 ml atau menggunakan enzim murni untuk mendapatkan kadar bioetanol tertinggi sebagai pengganti substitusi minyak tanah/bahan bakar fosil
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengukuran kadar lignin yang terlarut dan kadar selulosa pada sabut kelapa setelah proses *pretreatment*.
3. Perlu ditambahkan perlakuan kontrol negatif terhadap uji selulolitik dan uji aktivitas enzim selulase
4. Perlu dilakukan pengukuran kadar glukosa pada saat sebelum dan sesudah fermentasi.
5. Perlu ditelusuri lebih lanjut tentang masalah banyaknya produksi sabut kelapa yang tidak terpakai sehingga bisa diperkirakan untuk dimanfaatkan dalam produksi etanol skala besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, D. 2018. *Hidrolisis Limbah Padat Alang-Alang (Imperata cylindrica (L.) Beauv.) Oleh Penicillium sp., Aspergillus niger dan Trichoderma viride Sebagai Bahan Dasar Bioetanol*. Doctoral dissertation. Universitas Airlangga).
- Ahmed, S., Rahman, S., Hasan, M., Paul, N., & Sajib, A. A. 2018. Microbial degradation of lignocellulosic biomass: discovery of novel natural lignocellulolytic bacteria. *BioTechnologia. Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology*. 99(2)
- Ajala, E. O., Olonade, Y. O., Ajala, M. A., & Akinpelu, G. S. 2020. Lactic acid production from lignocellulose—A review of major challenges and selected solutions. *ChemBioEng Reviews*. 7(2): 38-49.
- Al Hafizh, M. A., Widiyastuti, W., & Nurtono, T. 2022. Pra-Desain Pabrik Fraksinasi Lignoselulosa dengan Metode Steam Explosion. *Journal of Fundamentals and Applications of Chemical Engineering (JFACHE)*. 3(1): 7-12.
- Al Muntazhor, M. N. 2020. Pengaruh variasi jumlah ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan lama fermentasi kertas HVS bekas pakai terhadap kadar etanol. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Alaam, H., Mousa, I. E., Rizk, N. M., Hamza, H. A., & Eldourghamy, A. S. 2024. Comparative Study on Cellulase Production and Optimization by *Bacillus* species and *Aspergillus niger* Using Wheat Bran Under Solid-State Fermentation. *Journal of Current Veterinary Research*. 6(2): 88-105.
- Al-Judaibi, A. A. 2011. Effect of some fermentation parameters on ethanol production from beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae* CAIM13. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(2): 301-3016.
- Amrillah, N. A. Z., Hanum, F. F., & Rahayu, A. 2022. Studi Efektivitas Metode Ekstraksi Selulosa dari Agricultural Waste. In *Prosiding Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*. 1(1).
- Anggorowati, D. A., & Dewi, B. K. 2013. Pembuatan bioetanol dari limbah sabut kelapa dengan metode hidrolisis asam dan fermentasi dengan menggunakan ragi tape. *Industri Inovatif*. 3(2): 9-13.
- Anwar, N., Widjaja, A., & Winardi, S. 2011. Peningkatan unjuk kerja hidrolisis enzimatik jerami padi menggunakan campuran selulase kasar dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Makara Journal of Science*. 14(2): 3.
- Arnata, I. W., Fahma, F., Richana, N., & Sunarti, T. C. 2019. Cellulose Production from Sago Frond with Alkaline Delignification and Bleaching on Various Types of Bleach Agents. *Oriental Journal of Chemistry*. 35(1): 08-19
- Ashraf, S. R., Afroz, A., & Anwar, Z. 2023. Physicochemical parameters optimization and peroxidase characterization from *Aspergillus niger* native strain by solid-state fermentation for improved dye decolorization. *BioResources*. 18(3): 5512.

- Asy-Syaukani, M. 2008. *Tafsir Fathul Qadir*. Penerjemah: Amir Hamzah Fachruddin, Asep Saefullah. Jakarta: Pustaka Azzam
- Badan Statistik Provinsi Jawa Timur. 2023. *Luas Area Tanaman Perkebunan Kelapa Sawit dan Kelapa Menurut Kabupaten/Kota dan Jenis Tanaman di Provinsi Jawa Timur (ha), 2021 dan 2022*. Diakses 2 Oktober 2024 dari <https://jatim.bps.go.id/id/statistics-table/1/MjU5NiMx/luas-area-tanaman-perkebunan-kelapa-sawit-dan-kelapa-menurut-kabupaten-kota-dan-jenis-tanaman-di-provinsi-jawa-timur-ha-2021-dan-2022.html>
- Bahri, S., Aji, A., & Yani, F. 2019. Pembuatan bioetanol dari kulit pisang kepok dengan cara fermentasi menggunakan ragi roti. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 7(2): 85-100.
- Bajpai, P. 2004. Biological bleaching of chemical pulps. *Critical reviews in biotechnology*. 4(1): 1-58.
- Bhavan, M., & Marg, B. S. Z. 2005. *Indian Standard: Table of Alcoholometry (Pycnometer Methode) First Revision*. New Delhi: Bureau of Indian Standards
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. 2013. *Jawetz, Melnick and Adelberg, s medical microbiology, 26th edn*. USA: The McGraw-Hill Companies.
- Dahnum, D., Tasum, S. O., Triwahyuni, E., Nurdin, M., & Abimanyu, H. 2015. Comparison of SHF and SSF processes using enzyme and dry yeast for optimization of bioethanol production from empty fruit bunch. *Energy Procedia*. 68: 107-116.
- Darajat, H. A. 2017. Prospek Pengembangan Teknologi Radiasi Sebagai Perlakuan Pendahuluan Biomassa Lignoselulosa. *Jurnal Forum Nuklir*. 11(2): 71-80.
- Darwesh, O. M., El-Maraghy, S. H., Abdel-Rahman, H. M., & Zaghoul, R. A. 2020. Improvement of paper wastes conversion to bioethanol using novel cellulose degrading fungal isolate. *Fuel*. 262: 116518.
- Departemen Agama. 2009. *Tafsir Al-Quran Tematik: Kesehatan Dalam Perspektif Al-Qur'an*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an Badan Litbang dan Diklat Departemen Agama RI
- Departemen Agama. 2009. *Tafsir Al-Quran Tematik: Pelestarian Lingkungan Hidup*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an Badan Litbang dan Diklat Departemen Agama RI
- Dethan, P. J. L. 2024. Penggunaan Limbah Kulit Pisang Luan (*Musa paradisiaca*) sebagai Adsorben Untuk Mengurangi Salinitas dan Ion Klorida pada Air Sumur di Desa Letneo. *Jurnal Integrasi Proses*. 13(1): 52 – 58.
- Devi, M. C., & Kumar, M. S. 2012. Production, optimization and partial purification of cellulase by *Aspergillus niger* fermented with paper and timber sawmill industrial wastes. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 2(1): 120-128.
- Dey, P., & Saggi, S. K. 2016. An Innovative Approach towards Economic Bioethanol Production from Starchy and Ligno-Cellulosic Biomass through Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 5(5): 870-877.

- Dincă M., Ferdeş M., Paraschiv G., Ungureanu N., Vlăduţ V., Moiceanu G., & Zăbavă B. 2017. Lignocellulosic Biomass *Pretreatment* For Biofuel Production. *Analele Universităţii din Craiova, seria Agricultură-Montanologie-Cadastru (Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series)*. 47: 310-316
- Dini, I. R., & Munifah, I. 2014. Produksi dan karakterisasi enzim selulase ekstrak kasar dari bakteri yang diisolasi dari limbah rumput laut. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. 6(3).
- Direktorat Jendral Perkebunan 2021. *Statistik Perkebunan Unggulan Nasional 2019-2021*. Kementerian Pertanian Republik Indonesia
- Erliza. 2008. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Penerbit Agro Media.
- Fadel, M., Keera, A. A., Mouafi, F. E., & Kahil, T. 2013. High level ethanol from sugar cane molasses by a new thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain in industrial scale. *Biotechnology research international*. 2013(1): 253286.
- Fariq, A. 2016. Microbial Cellulases: Production and Applications. *Journal of Biotechnology Science Research*. 3(1): 122-127.
- Fatriasari, W., & Hermiati, E. 2016. Lignocellulosic biomass for bioproduct: its potency and technology development. *Journal of Lignocellulose Technology*. 1(1): 1-14.
- Fatriasari, W., Masruchin, N., & Hermiati, E. 2019. *Selulosa: karakteristik dan pemanfaatannya*. Jakarta: Penerbit BRIN
- Fuego, D. P., Jerez, B. L. R., & Acuña, M. L. A. 2021. Antimicrobial Activity of Endophytic Fungi Isolated from *Cocos nucifera* L. (Coconut) Cotyledon. *Open Journal of Medical Microbiology*. 11(2): 75–89.
- Gugule, S., Fatimah, F., & Maanari, C. P. 2019. Pemisahan dan Karakterisasi Etanol dari Nira Aren (*Arenga pinnata*) (Separation and Characterization of Ethanol from Palm Sap (*Arenga pinnata*)). *IPTEK Journal of Proceedings Series*. (4): 13-17.
- Hanafiah, Kemas Ali. 2014. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Hardianty, D. I., Roza, R. M., & Martina, A. (2013). *Isolasi dan Seleksi Jamur Selulolitik dari Hutan Arboretum Universitas Riau*. Doctoral dissertation. Universitas Riau
- Hidayat, M. R. 2013. Teknologi *pretreatment* bahan lignoselulosa dalam proses produksi bioetanol. *Biopropal Industri*. 4(1): 33-48.
- Hidayat, R. A., & Isnawati, I. 2021. Isolasi dan karakterisasi jamur selulolitik pada fermentodege: pakan fermentasi berbahan campuran eceng gondok, bekatul padi, dan tongkol jagung. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*. 10(2): 176-187.
- Indahyani, T. 2011. Pemanfaatan limbah sabut kelapa pada perencanaan interior dan furniture yang berdampak pada pemberdayaan masyarakat miskin. *Humaniora*. 2(1): 15-23.
- Isnawati. 2019. Aktivitas Sellulolitik Fungi Indigenus pada Fermetoge: Pakan Fermentasi Hewan Ruminansia Terbuat dari Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dan Tongkol Jagung (*Zea mays*). *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*. 1(1): 26-31.

- Jamilatun, M., Azzahra, N., & Aminah, A. 2020. Perbandingan pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada media instan modifikasi carrot sucrose agar dan potato dextrose agar. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 4(1).
- Jannah, A. M., & Aziz, T. 2017. Pemanfaatan sabut kelapa menjadi bioetanol dengan proses delignifikasi acid-pretreatment. *Jurnal Teknik Kimia*. 23(4): 245-251.
- Jannah, A. M., Pratiwi, N. D., & Lahanda, T. 2022. Pembuatan Bioetanol Berbahan Baku Sabut Kelapa Menggunakan Metode *Simultaneous Saccharification Fermentation Bioethanol Production from Coconut Husk by Using Simultaneous Saccharification Fermentation Method*. *Jurnal Teknik Kimia*. 28(1): 2.
- Jayanudin.(2010). Pengaruh Konsentrasi dan Waktu Pemutihan Serat Daun Nanas menggunakan Hidrogen Peroksida. *Skripsi*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa: Cilegon
- Jayus, J., Suwasono, S., & Wijayanti, I. 2017. Produksi Bioetanol Secara SHF Dan SSF Menggunakan *Aspergillus Niger*, *Trichoderma Viride* Dan New Aule Instant Dry Yeast Pada Media Kulit Ubi Kayu. *Jurnal Agroteknologi*. 11(1): 61-68.
- Jayus., Nurhayati., Ayu Mayzuhroh., Sabrina Arindhani., & Charoen Caroenchai. 2016. Studies on Bioethanol Production of Commercial Baker's and Alcohol Yeast under Aerated Culture Using Sugarcane Molasses as The Media. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 9:493 – 499.
- Johnprimen, H.S., Turnip, A., & Dahlan, M. H. 2012. Pengaruh Massa Ragi, Jenis Ragi dan Waktu Fermentasi pada Bioetanol dari Biji Durian. *Jurnal Teknik Kimia*. 18(2): 43-51.
- Kapli, H., & Athifahullaila, D. 2022. Identification of Potential Fungus as Plant Pest Organisms and Causes of Diseases in Cultivated Plants in Pekanbaru. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*. 9(2): 70-83.
- Kartika, A. A. 2022. Analisis Kadar Alkohol Pada Minuman Tuak Dan Arak Menggunakan Metode Berat Jenis Dan Kromatografi Gas-FID. *Acta Holistica Pharmacia*. 4(2): 80-106.
- Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM). 2021. *Menteri ESDM: Cadangan Minyak Indonesia Tersedia untuk 9,5 Tahun dan Cadangan Gas 19,9 Tahun. Siaran Pers Nomor 028.Pers/04/SJI/2021*. Diakses 14 September 2022, dari <https://www.esdm.go.id/id/mediacenter/arsip-berita/menteri-esdmcadangan-minyak-indonesia-tersediauntuk-95-tahun-dan-cadangan-gas-199->
- Khazalina, T. 2020. *Saccharomyces cerevisiae* dalam Pembuatan Produk Halal Berbasis Bioteknologi Konvensional dan Rekayasa Genetika. *Journal of Halal Product and Research*. 3(2): 88-94.
- Kikas, T., L. Rocha-Meneses., M. Raud., & K. Orupöld.. 2017. Produksi Bioetanol Generasi Kedua: Tinjauan Strategi untuk Pemanfaatan Limbah. *Penelitian Agronomi*. 15(3): 830-847
- Kumar, M., Campbell, L., & Turner, S. 2016. Secondary cell walls: biosynthesis and manipulation. *Journal of experimental botany*. 67(2): 515-531.

- Kunusa, W. R. 2017. Kajian tentang isolasi selulosa mikrokristalin (SM) dari limbah tongkol jagung. *Jambura Journal of Educational Chemistry*. 12(1): 105-108.
- Larasati, T. R. D., Mulyana, N., Anggriawan, M., & Effendi, Y. 2018. Produksi enzim selulase oleh fungi selulolitik yang diradiasi sinar gamma dalam fermentasi jerami padi. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. 16(3): 139-147.
- Lee, H. V., Hamid, S. B. A., & Zain, S. K. 2014. Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: structure and chemical process. *The Scientific World Journal*. 2014(1): 631013.
- Liu, K., Du, H., Zheng, T., Liu, H., Zhang, M., Zhang, R., Li, H., Xie, H., Zhang, X., Ma, M., & Si, C. 2021. Recent advances in cellulose and its derivatives for oilfield applications. *Carbohydrate Polymers*. 259: 117740.
- Lü, Xin. 2021. *Advances in 2nd generation of bioethanol production*. Sawston: Woodhead Publishing.
- Mahmudah, R. 2020. Pemberdayaan Limbah Serabut Kelapa Menjadi Pobuke Berbasis Geometri Untuk Menaggulangi Tingkat Pengangguran Di Desa Senyur. *ABSYARA: Jurnal Pengabdian Pada Masyarakat*. 1(1): 33–34.
- Malakar, Santanu., Sanjib Kr. Paul., & K.R. Jolvis Pou. 2020. *Biotechnological Progress and Beverage Consumption*. Elsevier.
- Morana, A. M. 2011. *Cellulase From Fungi and Bacteria and Their Biotechnological Aplications*. In A. E. Golan, *Cellulase: type and action, mechanism, and use (p. 6)*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Mrudula, S., & Murugammal, R. 2011. Production of cellulase by *Aspergillus niger* under submerged and solid state fermentation using coir waste as a substrate. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42: 1119-1127.
- Mulyadi, D., Khumaisah, L. L., & Rahayu, S. 2023. Pemanfaatan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Bioetanol Generasi Dua (G2) dengan Variasi Konsentrasi Ragi Melalui Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF). *Jurnal Teknik Mesin*. 20(2): 46-54.
- Mulyawan, M., Setyowati, E., & Widjaja, A. 2015. Surfaktan sodium ligno sulfonat (SLS) dari debu sabut kelapa. *Jurnal Teknik ITS*. 4(1): F1-F3.
- Murni, S. W., Gunarto, G., Sudewi, T., & Jaka S, A. 2012. Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* Secara Fermentasi dalam Medium Kultur Padat. *Jurnal Teknik Kimia "Kejuangan"*. 4(5).
- Murtianingsih, H., & Hazmi, M. 2017. Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase pada bakteri selulolitik asal tanah sampah. *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*. 15(2).
- Nasrun, N., Jalaluddin, J., & Mahfuddhah, M. (2017). Pengaruh jumlah ragi dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi kulit pepaya. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 4(2): 1-10.
- Noverita. 2009. Identifikasi Kapang dan Khamir Penyebab Penyakit Manusia pada Sumber Air Minum Penduduk pada Sungai Ciliwung dan Sumber Air Sekitarnya. *Vis Vitalis*. 2(2): 15- 19.
- Novitasari, C. D., Ani, A., & Ekawati, R. 2012. Pemanfaatan Limbah Ampas Tebu (Bagasse) untuk Produksi Bioetanol Melalui Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak. *Pelita-Jurnal Penelitian Mahasiswa UNY*, (2).

- Nugraha, R., Ardyati, T., & Suharjo, S. 2014. Eksplorasi Bakteri Selulolitik yang Berpotensi Sebagai Agen Biofertilizer dari Tanah Perkebunan Apel Kota Batu, Jawa Timur. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*. 2(3): 159-163.
- Nuraini, A. I., & Ratni, N. 2021. Pengaruh Waktu dan Nutrien pada Proses Fermentasi Sampah Organik Menjadi Bioetanol dengan Metode Ssf. *Enviroous*. 1(2): 76-82.
- Nurfaizin, S., & Hartati, I. 2023. Optimasi Selulosa Limbah Kulit Nanas untuk Produksi Biogas Melalui Metode Delignifikasi Mae (*Microwave Assisted Extraction*) dengan Pelarut Aquades. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*. 8(1): 51-58.
- Ojo, A. O. 2023. An overview of lignocellulose and its biotechnological importance in high-value product production. *Fermentation*. 9(11): 990.
- Olofsson, K., Rudolf, A., & Lidén, G. 2008. Designing simultaneous saccharification and fermentation for improved xylose conversion by a recombinant strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of biotechnology*. 134(1-2): 112-120.
- Osaka, I. T. P. C. (2022). *Laporan Analisis Intelijen Bisnis: Coco Coir, Coco Fiber, Coco Peat*. 1-38
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. 2013. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1. Jakarta: UI Press
- Permatasari, H. R., Gulo, F., & Lesmini, B. 2014. Pengaruh konsentrasi H₂SO₄ dan NaOH terhadap delignifikasi serbuk bambu (*Gigantochloa apus*). *Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Sriwijaya*. 131-140.
- Prakash, R., & Jha, S. N. 2014. Basic of The Genus *Aspergillus*. *International journal of Research Botany*. 4(2): 26-30.
- Prescott, & Dunn C. G. 1959. *Industrial microbiology*. New York: McGraw-Hill
- Prihandana, R., et al. 2007. *Bioetanol Ubi Kayu Bahan bakar Masa Depan*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Primadevi, S., & Kresnadipayana, D. 2016. Penetapan kadar etanol pada minuman beralkohol berbagai merk melalui pengukuran berat jenis. *Biomedika*. 9(1): 71-74.
- Purkan, H., & Sumarsih, S. 2015. Produksi enzim selulase dari *Aspergillus niger* menggunakan sekam padi dan ampas tebu sebagai inducer. *Jurnal ILMU DASAR*. 16(2).
- Putri, C. N., & Utami, B. 2017. Pembuatan Bioetanol dengan Cara Hidrolisis Menggunakan Kertas Koran Bekas serta Pemurnian Menggunakan Agen Pengering (MgSO₄, Na₂SO₄, dan CaCl₂). *Journal Cis- Trans (JC-T)*. 1(1): 2549-6573.
- Rahardiyan, D., & Moko, E. M. 2023. Isolation and Molecular Screening of Fungus as Agents in Cellulolytic Transformation Materials from Symbiotic Lichen. *Biosaintifika*. 15(3): 412-422.
- Rahayu, A., Hanum, F. F., Amrillah, N. A. Z., Lim, L. W., & Salamah, S. 2022. Cellulose extraction from coconut coir with alkaline delignification process. *Journal of Fibers and Polymer Composites*. 1(2): 106-116.

- Rahmayanti, L., Rahmah, D. M., & Larashati, L. 2021. Analisis pemanfaatan sumber daya energi minyak Dan gas bumi di Indonesia. *Jurnal Sains Edukatika Indonesia (JSEI)*. 3(2).
- Rehm, H. J., & Reed, G. 1983. *Biotechnology Vol III: Industrial Microbiology*. Westport Connecticut: AVI Publishing Company Inc.
- Retnoningtyas, E. S., Hariyanto, B., & Nugroho, Y. 2013. Aplikasi *Crude Enzim Selulase* dari Tongkol Jagung pada Produksi Etanol dengan Metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)*. *Reaktor*. 14(4): 272–276.
- Rifa'i, A. F., Pamungkas, W. A., Setyawati, R. B., Setiawan, C. P., & Waluyo, J. 2022. Kajian Teknoekonomi Bioetanol Berbahan Molasses Sebagai Alternatif Substitusi BBM. *Equilibrium Journal of Chemical Engineering*. 6(1): 57-68.
- Rizal, M. 2024. *Karakterisasi dan Uji Aktivitas Enzim Kapang Selulolitik dari Limbah Serbuk Gergaji*. Tesis. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Rosyida, V. T., Hayati, S. N., Indrianingsih, A. W., Maryana, R., Purwesti, Y. A., & Ayesda, C. S. 2018. Enzim Selulase Kasar *Aspergillus niger* FNCC 6018 untuk Produksi Bioetanol melalui Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 2(2): 77-89.
- Roukas, T., 1996, Continuous Bioetanol Production from Nonsterilized Carob Pod Extract by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on Mineral Kissiris Using A Two Reactor System. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 59(3): 299-307
- Sabrini, Z., Rukmi, I., & Ferniah, R. S. 2018. Aktivitas Enzimatis Biakan Kapang *Aspergillus Section Nigri* DUCC (Diponegoro University Culture Collection) Dan Identifikasi Molekuler Isolat Potensial. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*. 23(1): 1-5.
- Sabrini, Z., Rukmi, I., & Ferniah, R. S. 2021. Aktivitas Enzimatis Biakan Kapang *Aspergillus Section Nigri* DUCC (Diponegoro University Culture Collection) Dan Identifikasi Molekuler Isolat Potensial. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*. 23(1): 1-5.
- Sa'diyah, H. 2018. Daur ulang limbah dalam pandangan hukum islam. *AT-TURAS: Jurnal Studi Keislaman*. 5(1): 46-59.
- Samsuri, M., Gozan, M., Mardias, R., Baiquni, M., Hermansyah, H., Wijanarko, A., Prasetya, B., Nasikin, M. 2007. *Pemanfaatan Selulosa Bagas Untuk Produksi Ethanol melalui Sakarifikasi Dan Fermentasi Serentak dengan Enzim Xylanase*. Bogor : LIPI Bogor
- Sarris, D., & Papanikolaou, S. 2016. Biotechnological Production of Ethanol: Biochemistry, Processes and Technologies. *Eng. Life Sci*. 16: 307–329.
- Sasmal, S., & Mohanty, K. 2018. *Pretreatment of lignocellulosic biomass toward biofuel production. Biorefining of biomass to biofuels: opportunities and perception*. 4: 203-221.
- Selviza, S., Idiawati, N., & Zaharah, T. A. 2013. Efektivitas campuran enzim selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam menghidrolisis substrat sabut kelapa. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2(1).

- Senam. 2009. Prospek Bioetanol sebagai Bahan Bakar yang Terbarukan dan Ramah Lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Sharma, N., & Sharma, N. 2018. Second Generation Bioethanol Production from Lignocellulosic Waste and Its Future Perspectives: A Review. *Int.J.Curr. Microbiol.App.Sci.* 7(5): 1285-1290.
- Shihab, M. Q. 2002. Tafsir al-misbah. *Jakarta: lentera hati*, 2, 52-54.
- Simanjuntak, A. Y. M., & Subagyo, R. 2019. Analisis hasil fermentasi pembuatan bioetanol dengan variasi waktu menggunakan bahan (singkong, beras ketan hitam dan beras ketan putih). *Scientific Journal of Mechanical Engineering Kinematika.* 4(2): 79-90.
- Sudarma, N., & Parwata, I. M. O. A. 2017. Penentuan kadar etanol pada arak dengan metode kromatografi gas. *Bali medika jurnal.* 4(2): 126-135.
- Sunarsih, E. 2014. Konsep pengolahan limbah rumah tangga dalam upaya pencegahan pencemaran lingkungan. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat.* 5(3).
- Suprianto, S., Tawfiequrrahman, A., Yunanto, D. E., de Almeida Cabral, C., & Hanafi, A. 2014. Pengaruh Simultan Parameter Suhu dan Konsentrasi Larutan NaOH Terhadap Kuantitas dan Kualitas Hasil Cellulose Powder pada Proses Delignifikasi Tongkol Jagung. *Jurnal Sains & Teknologi Lingkungan.* 6(2): 86-97.
- Szendefy, J., Szakacs, G., & Christopher, L. 2006. Potential of solid-state fermentation enzymes of *Aspergillus oryzae* in biobleaching of paper pulp. *Enzyme and microbial technology.* 39(6): 1354-1360.
- Tran, T., Le, P., Mai, P., & Nguyen, Q. 2019. Ethanol production from lignocellulosic biomass. *IntechOpen: Rijeka, Croatia.* 1-13.
- Verma, D., Gope, P., & Maheswari, M.K. 2012. Coir Fiber Reinforcement and Application in Polymer Composites: A Review. *Journal of Materials and Environmental Science.* 4(2): 263-276.
- Wartini, Ni Ketut., Paulus H. Abram., & Nurdin Rahman. 2017. Pembuatan Etanol dari Buah Salak (*Salacca zalacca*) Melalui Proses Fermentasi. *J. Akademika Kim.* 6(4): 237-240.
- Widiyanti, S. E. 2017. Studi Kinetika Konsumsi Glukosa oleh *Aspergillus Niger* dalam Produksi Bioethanol dari Lignoselulosa. *INTEK: Jurnal Penelitian.* 4(1): 14-19.
- Widyastuti, P. 2019. Pengolahan limbah kulit singkong sebagai bahan bakar bioetanol melauai proses fermentasi. *Jurnal Kompetensi Teknik.* 11(1): 41-46.
- Wijaya, M., & Wiharto, M. 2017. Kandungan selulosa limbah kakao dan analisis kandungan kimia asap cair kulit kakao dengan metode GC-MS. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia).* 2(3): 191-197
- Winarno, F.G., & Fardiaz S. 1992. *Pengantar Teknologi Pangan.* Jakarta: Gramedia.
- Wirahadikusumah, Muhammad. 1985. *Biokimia: Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid.* Bandung: Penerbit ITB.
- Wiyantoko, M., Rusitasari, B., & Putri, R. 2017. Identifikasi glukosa hasil hidrolisis serat daun nanas menggunakan metode fenol-asam sulfat secara

- spektrofotometri uv-visibel. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Fmipa Unesa Unesa*. 124-31.
- Wonoraharjo, S. 2013. *Metode-Metode Pemisahan Kimia*. Jakarta: Akademia Permata.E
- Wusnah, W., Bahri, S., & Hartono, D. 2020. Proses pembuatan bioetanol dari kulit pisang kepok (*Musa acuminata BC*) secara fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 8(1): 48-56.
- Yahya, M. A., Al-Qodah, Z., & Ngah, C. Z. 2015. Agricultural bio-waste materials as potential sustainable precursors used for activated carbon production: A review. *Renewable and sustainable energy reviews*. 46: 218-235.
- Yuniarti, D. P., & Efrinalia, W. 2018. Pengaruh Jumlah Ragi Dan Waktu Fermentasi Pada Pembuatan Bioetanol Dengan Bahan Baku Ampas Tebu. *Jurnal Redoks*. 3(2): 1-12.
- Yusnia, E. D., Wayan Gunam, I. B., & Semadi Antara, N. (2019). Isolasi Dan Skrining Bakteri Selulolitik Dari Beberapa Tanah Hutan Di Bali. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 7(1): 11.
- Zhang, Y., *et al.* 2018. Production of bioethanol from lignocellulosic biomass using a simultaneous saccharification and fermentation process: A review. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*. 4(1)

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

	
<p>Pengambilan Sabut Limbah Sabut Kelapa</p>	<p>Proses delignifikasi sabut kelapa</p>
	
<p>Pengeringan sabut kelapa menggunakan oven</p>	<p>Pembuatan media <i>Potato Dextrose Agar</i> PDA</p>
	
<p>Sub-kultur <i>Aspergillus niger</i> di media PDA</p>	<p>Pembuatan media CMC Agar 1%</p>
	
<p>Sub-Kultur <i>Aspergillus niger</i> ke media CMC Agar 1%</p>	<p>Penuangan larutan <i>Congo Red</i> ke media CMC Agar 1%</p>

	
<p>Pembuatan suspensi spora <i>Aspergillus niger</i></p>	<p>Inkubasi enzim selulase Kasar di <i>Shaker Incubator</i></p>
	
<p>Pemisahan pelet dan supernatan enzim selulase kasar menggunakan <i>sentrifuge</i></p>	<p>Hasil akhir enzim selulase kasar</p>
	
<p>Perhitungan absorbansi uji aktivitas enzim selulase kasar menggunakan spektrofotometer</p>	<p>Proses <i>Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)</i></p>
	
<p>Gelembung udara yang muncul saat proses SSF</p>	<p>Destilasi larutan hasil SSF</p>

	
<p>Pengukuran kadar etanol metode berat jenis menggunakan piknometer</p>	<p>Hasil akhir bioetanol</p>

Lampiran 2. Uji Kemampuan Selulolitik *Aspergillus niger*

1. Perhitungan Indeks aktivitas selulolitik (IS)

- Contoh perhitungan Indeks Aktivitas Selulolitik pada kuadran 1

Diameter koloni (DK) : 9,14 mm
 Diameter Zona Bening (DB) : 18,36 mm

Selanjutnya, hasil tersebut dimasukkan ke dalam rumus Indeks aktivitas selulolitik:

$$\text{Indeks aktivitas selulolitik (IS)} = \frac{\text{Diameter zona bening (DB)} - \text{diameter koloni (DK)}}{\text{Diameter koloni (DK)}}$$

$$\text{Indeks aktivitas selulolitik (IS)} = \frac{18,36 - 9,14}{9,14}$$

$$\text{Indeks aktivitas selulolitik (IS)} = \frac{461}{457}$$

$$\text{Indeks aktivitas selulolitik (IS)} = 1.008753$$

2. Hasil perhitungan Indeks aktivitas selulolitik (IS)

Kuadran	DB	DK	IS
1	18.36	9.14	1.008753
2	19.12	9.32	1.051502
3	21.37	6.79	2.147275
4	23.31	8.78	1.654897
Rata-Rata	20.54	8.5075	1.465607

Lampiran 3. Aktivitas Enzim Selulase

1. Pembuatan larutan standar glukosa

Cara membuat larutan stok glukosa 1000 ppm

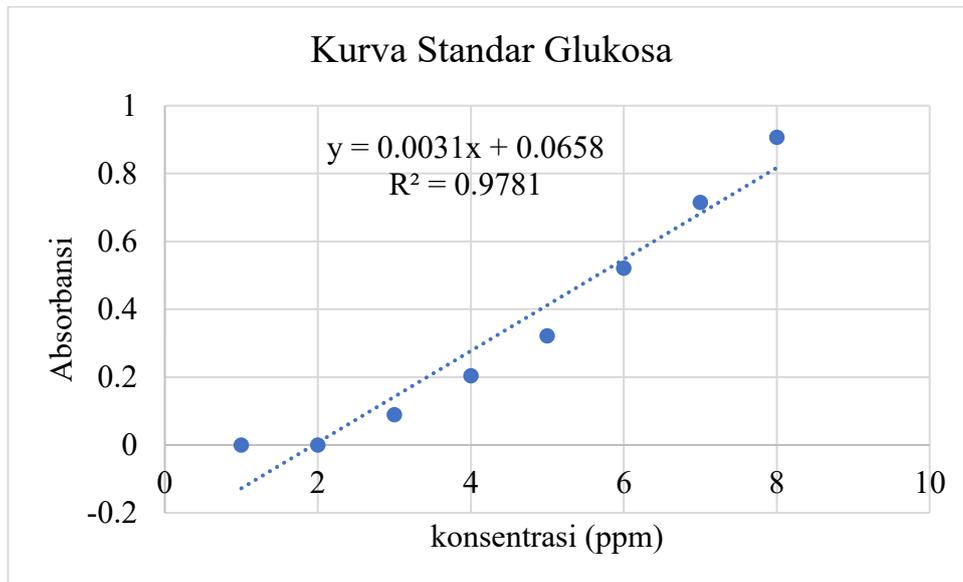
$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{0,1 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

Konsentrasi		Aquades (ml)	Larutan stok standar glukosa (ml)
Ppm	mg/ml		
0	0.0	2.00	0.00
50	0.05	1.90	0.10
100	0.10	1.80	0.20
150	0.15	1.70	0.30
200	0.20	1.60	0.40
250	0.25	1.50	0.50
300	0.30	1.40	0.60

2. Hasil Absorbansi

Konsentrasi Glukosa (ppm)	Nilai Absorbansi
0 (Blanko)	0
50	0.089
100	0.204
150	0.321
200	0.521
250	0.715
300	0.907
Absorbansi Sampel	0.459
Absorbansi Kontrol	0.439

3. Grafik Kurva Standar Glukosa



4. Perhitungan kadar gula reduksi

Persamaan regresi $y = 0.0031x + 0.0658$

$$\text{atau } x = \frac{y - 0,0658}{0,0031}$$

Keterangan : y = absorbansi
 x = konsentrasi glukosa

- Perhitungan kadar gula reduksi sampel

$$X = \frac{0,459 - 0,0658}{0,0031}$$

$$X = 126,8 \text{ ppm}$$

- Perhitungan kadar gula reduksi sampel

$$X = \frac{0,439 - 0,0658}{0,0031}$$

$$X = 120,3 \text{ ppm}$$

5. Perhitungan Aktivitas Enzim

$$\text{Aktivitas Enzim U/ml} = \frac{(X_{\text{sampel}} - X_{\text{kontrol}}) \times FP}{V \times T \times BM}$$

Keterangan :

X = kadar gula reduksi

FP = faktor pengenceran (1000)

v = volume enzim (1 mL)

t = waktu inkubasi (10 menit)

BM = berat molekul glukosa (180,18 mg/mL)

- Perhitungan Aktivitas Enzim

$$\text{Aktivitas Enzim (U/ml)} = \frac{(126,8 - 120,3) \times 1000}{1 \times 10 \times 180,18}$$

$$\text{Aktivitas Enzim (U/ml)} = 3,607503$$

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Bioetanol Berdasarkan Nilai Gravitasi Jenis Sampel Menggunakan Piknometer

- Contoh perhitungan kadar bioetanol sampel dengan perlakuan konsentrasi ragi 7 gram (b/v) dan konsentrasi enzim 10 ml (v/v) pada ulangan 1

Berat piknometer kosong 1 (B_1)	: 15,6062
Berat piknometer berisi aquades (B_{aquades})	: 25,5031
Berat piknometer kosong 2 (B_2)	: 15,6238
Berat piknometer berisi sampel (B_{sampel})	: 25,1651

Selanjutnya, hasil tersebut dimasukkan ke dalam rumus Gravitasi Jenis:

$$\text{Gravitasi Jenis (SG)} = \frac{(B_{\text{sampel}} - B_2)}{(B_{\text{aquades}} - B_1)}$$

$$\text{Gravitasi Jenis (SG)} = \frac{(25,1651 - 15,6238)}{(25,5031 - 15,6062)}$$

$$\text{Gravitasi Jenis (SG)} = \frac{95413}{98969}$$

$$\text{Gravitasi Jenis (SG)} = 0,96407$$

Nilai gravitasi jenis yang diperoleh selanjutnya dikonversi menggunakan referensi dari *Indian Standard: Table of Alcoholometry* (Metode Piknometer). Berdasarkan hasil pengukuran, sampel dengan gravitasi jenis sebesar 0,96407 pada suhu 25°C diketahui mengandung etanol sebesar 28,6%.

Lampiran 5. Data Gravitasi Jenis Sampel

Faktor Perlakuan			Kadar Bioetanol (%)		
Konsentrasi Ragi (b/v)	Konsentrasi enzim (v/v)	Kode Perlakuan	Ulangan		Rata-Rata
			1	2	
0 gram	0 ml	R0E0 (P1)	1.00147	1.00122	1.0013450
	7,5 ml	R0E1 (P2)	0.986022	0.985809	0.9859155
	10 ml	R0E2 (P3)	0.975632	0.976304	0.9759680
	12,5 ml	R0E3 (P4)	0.976824	0.977301	0.9770625
	15 ml	R0E4 (P5)	0.987571	0.988291	0.9879310
1 gram	0 ml	R1E0 (P6)	0.997956	1.00097	0.9994630
	7,5 ml	R1E1 (P7)	0.973487	0.975751	0.9746190
	10 ml	R1E2 (P8)	0.970053	0.970270	0.9701615
	12,5 ml	R1E3 (P9)	0.971365	0.974312	0.9728385
	15 ml	R1E4 (P10)	0.971274	0.978334	0.9748040
3 gram	0 ml	R2E0 (P11)	0.997551	1.001	0.9992755
	7,5 ml	R2E1 (P12)	0.975033	0.974667	0.9748500
	10 ml	R2E2 (P13)	0.970529	0.973925	0.9722270
	12,5 ml	R2E3 (P14)	0.970819	0.973775	0.9722970
	15 ml	R2E4 (P15)	0.973749	0.977088	0.9754185
5 gram	0 ml	R3E0 (P16)	0.996307	0.999190	0.9977485
	7,5 ml	R3E1 (P17)	0.974699	0.974353	0.9745260
	10 ml	R3E2 (P18)	0.967515	0.968373	0.9679440
	12,5 ml	R3E3 (P19)	0.971466	0.972102	0.9717840
	15 ml	R3E4 (P20)	0.971102	0.973036	0.9720690
7 gram	0 ml	R4E0 (P21)	0.996237	0.999135	0.9976860
	7,5 ml	R4E1 (P22)	0.974806	0.972715	0.9737605
	10 ml	R4E2 (P23)	0.964073	0.966735	0.9654040
	12,5 ml	R4E3 (P24)	0.969442	0.970024	0.9697330
	15 ml	R4E4 (P25)	0.972901	0.973841	0.9733710

Lampiran 6. Data Kadar Bioetanol

Faktor Perlakuan			Kadar Bioetanol (%)			
Konsentrasi Ragi (b/v)	Konsentrasi enzim (v/v)	Kode Perlakuan	Ulangan		Jumlah	Rata-Rata
			1	2		
0 gram	0 ml	R0E0 (P1)	0.0	0.0	0.0	0
	7,5 ml	R0E1 (P2)	10.2	10.4	20.6	10.3
	10 ml	R0E2 (P3)	19	18.4	37.4	18.7
	12,5 ml	R0E3 (P4)	18.0	17.6	35.6	17.8
	15 ml	R0E4 (P5)	9.0	8.4	17.4	8.7
1 gram	0 ml	R1E0 (P6)	1.4	0.0	1.4	0.7
	7,5 ml	R1E1 (P7)	20.8	19.0	39.8	19.9
	10 ml	R1E2 (P8)	23.8	22	45.8	22.9
	12,5 ml	R1E3 (P9)	22.8	20.2	43	21.5
	15 ml	R1E4 (P10)	22.8	16.6	39.4	19.7
3 gram	0 ml	R2E0 (P11)	1.6	0.0	1.6	0.8
	7,5 ml	R2E1 (P12)	19.4	19.8	39.2	19.6
	10 ml	R2E2 (P13)	23.4	20.6	44	22
	12,5 ml	R2E3 (P14)	23.2	20.6	43.8	21.9
	15 ml	R2E4 (P15)	20.6	17.8	38.4	19.2
5 gram	0 ml	R3E0 (P16)	2.4	0.6	3	1.5
	7,5 ml	R3E1 (P17)	20.0	20.2	40.2	20.1
	10 ml	R3E2 (P18)	26	25.2	51.2	25.6
	12,5 ml	R3E3 (P19)	24.8	24.4	49.2	24.6
	15 ml	R3E4 (P20)	23.0	21.2	44.2	22.1
7 gram	0 ml	R4E0 (P21)	2.6	0.6	3.2	1.6
	7,5 ml	R4E1 (P22)	19.8	21.6	41.4	20.7
	10 ml	R4E2 (P23)	28.6	26.6	55.2	27.6
	12,5 ml	R4E3 (P24)	24.4	23.8	48.2	24.1
	15 ml	R4E4 (P25)	21.4	20.6	42	21

Lampiran 7. Hasil Analisis Statistik Menggunakan SPSS

1. Tabel Statistika Deskriptif

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Kadar Bioetanol

Konsentrasi Ragi	Konsentrasi Enzim	Mean	Std. Deviation	N
0 gram	0 ml	.000	.0000	2
	7.5 ml	10.300	.1414	2
	10 ml	18.700	.4243	2
	12.5 ml	17.800	.2828	2
	15 ml	8.700	.4243	2
	Total	11.100	7.1878	10
1 gram	0 ml	.700	.9899	2
	7.5 ml	19.900	1.2728	2
	10 ml	22.900	1.2728	2
	12.5 ml	21.500	1.8385	2
	15 ml	19.700	4.3841	2
	Total	16.940	8.8172	10
3 gram	0 ml	.800	1.1314	2
	7.5 ml	19.600	.2828	2
	10 ml	22.000	1.9799	2
	12.5 ml	21.900	1.8385	2
	15 ml	19.200	1.9799	2
	Total	16.700	8.5491	10
5 gram	0 ml	1.500	1.2728	2
	7.5 ml	20.100	.1414	2
	10 ml	25.600	.5657	2
	12.5 ml	24.600	.2828	2
	15 ml	22.100	1.2728	2
	Total	18.780	9.3521	10
7 gram	0 ml	1.600	1.4142	2
	7.5 ml	20.700	1.2728	2
	10 ml	27.600	1.4142	2
	12.5 ml	24.100	.4243	2
	15 ml	21.000	.5657	2
	Total	19.000	9.5764	10
Total	0 ml	.920	1.0163	10
	7.5 ml	18.120	4.1838	10
	10 ml	23.360	3.3596	10
	12.5 ml	21.980	2.6923	10
	15 ml	18.140	5.3575	10
	Total	16.504	8.8564	50

2. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Kadar_Bioetanol	.066	50	.200 [*]	.964	50	.126

3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Bioetanol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.087	4	45	.986

4. Uji Anova & DMRT 5%

- Konsentrasi Ragi terhadap Kadar Bioetanol

ANOVA

Kadar Bioetanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	408.419	4	102.105	1.338	.271
Within Groups	3434.960	45	76.332		
Total	3843.379	49			

Kadar BioetanolDuncan^{a,b}

Konsentrasi Ragi	N	Subset		
		1	2	3
0 gram	10	11.100		
3 gram	10		16.700	
1 gram	10		16.940	
5 gram	10			18.780
7 gram	10			19.000
Sig.		1.000	.707	.730

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.986.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

- Konsentrasi enzim terhadap Kadar Bioetanol

ANOVA

Kadar Bioetanol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3251.403	4	812.851	61.790	.000
Within Groups	591.976	45	13.155		
Total	3843.379	49			

Kadar Bioetanol

Duncan^{a,b}

Konsentrasi Enzim	N	Subset			
		1	2	3	4
0 ml	10	.920			
7.5 ml	10		18.120		
15 ml	10		18.140		
12.5 ml	10			21.980	
10 ml	10				23.360
Sig.		1.000	.975	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 1.986.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10.000.

b. Alpha = .05.

- Interaksi Konsentrasi Ragi dan Konsentrasi enzim terhadap Kadar Bioetanol

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kadar Bioetanol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3793.739 ^a	24	158.072	79.609	.000
Intercept	13619.101	1	13619.101	6858.935	.000
Konsentrasi_Ragi	408.419	4	102.105	1.338	.271
Konsentrasi_Enzim	3251.403	4	812.851	61.790	.000
Konsentrasi_Ragi * Konsentrasi_Enzim	133.917	16	8.370	4.215	.001
Error	49.640	25	1.986		
Total	17462.480	50			
Corrected Total	3843.379	49			

a. R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .975)

Kadar Bioetanol

Duncan^a

Interaksi Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
R0E0	2	.000								
R1E0	2	.700								
R2E0	2	.800								
R3E0	2	1.500								
R4E0	2	1.600								
R0E4	2		8.700							
R0E1	2		10.300							
R0E3	2			17.800						
R0E2	2			18.700	18.700					
R2E4	2			19.200	19.200					
R2E1	2			19.600	19.600	19.600				
R1E4	2			19.700	19.700	19.700				
R1E1	2			19.900	19.900	19.900				
R3E1	2			20.100	20.100	20.100				
R4E1	2			20.700	20.700	20.700				
R4E4	2			21.000	21.000	21.000	21.000			
R1E3	2				21.500	21.500	21.500	21.500		
R2E3	2				21.900	21.900	21.900	21.900		
R2E2	2				22.000	22.000	22.000	22.000		
R3E4	2				22.100	22.100	22.100	22.100		
R1E2	2					22.900	22.900	22.900	22.900	
R4E3	2						24.100	24.100	24.100	
R3E3	2							24.600	24.600	24.600
R3E2	2								25.600	25.600
R4E2	2									27.600
Sig.		.320	.267	.061	.050	.056	.065	.065	.090	.054



JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

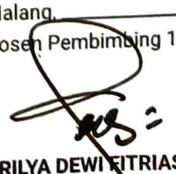
NIM : 210602110105
Nama : MUHAMMAD ZAQIDAFITRA AKBAR
Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan : BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 : PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc
Dosen Pembimbing 2 : MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : Pengaruh Variasi Jumlah Ragi Roti (*Saccharomyces cereviceae*) dan Konsentrasi Enzim Selulase terhadap Produksi Bioetanol Limbah Sabut Kelapa (*Cocos nucifera*)

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	01 April 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Konsultasi Judul	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	02 September 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Konsultasi dan Revisi BAB III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	06 September 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Revisi dan Konsultasi BAB I, BAB III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
4	13 September 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Revisi BAB I dan BAB III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
5	02 Oktober 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Revisi dan Konsultasi BAB I dan BAB II	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
6	18 Oktober 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Revisi dan Konsultasi BAB I, II, dan III	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
7	29 Oktober 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Pengecekan Terakhir Proposal Skripsi	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
8	30 Oktober 2024	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Konsultasi Integrasi	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
9	04 November 2024	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Persetujuan Naskah oleh Dosen Pembimbing I	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
10	11 November 2024	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Peersetujuan Naskah oleh Dosen Pembimbing II	Ganjil 2024/2025	Sudah Dikoreksi
11	15 Februari 2025	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Konsultasi Progres Penelitian	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
12	12 Maret 2025	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Konsultasi Progres Penelitian	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
13	22 April 2025	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Konsultasi BAB IV Hasil dan Pembahasan	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
14	30 April 2025	MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si	Konsultasi Integrasi Sains dan Islam	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
15	30 April 2025	PRILYA DEWI FITRIASARI,M.Sc	Revisi & Pengecekan Naskah Skripsi Terakhir	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Malang
Dosen Pembimbing 1


PRILYA DEWI FITRIASARI, M.Sc

Dosen Pembimbing 2


MUHAMMAD ASMUNI HASYIM, M.Si

Kajur. Kaprodi,





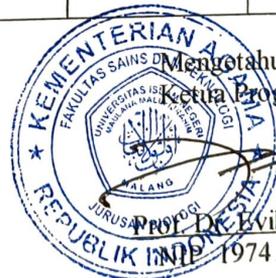
KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

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

Form Checklist Plagiasi

Nama : Muhammad Zaqidafitra Akbar
NIM : 210602110105
Judul : Produksi Bioetanol Limbah Sabut Kelapa menggunakan Enzim
Selulase *Aspergillus niger* dan Ragi Roti dengan Metode *Simultaneous
Saccharification Fermentation (SSF)*.

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	239	
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		



Mentorahui,
Ketua Program Studi Biologi

PROF. DR. Evika Sandi Savitri, M.P
19741018 200312 2 002