

**PENGARUH KONSENTRASI NUTRIEN NPK DAN LAMA
FERMENTASI TERHADAP KADAR BIOETHANOL NIRA SIWALAN
(*Borassus flabellifer L.*)**

SKRIPSI

Oleh :

Muhammad Hafizul Haqiqi

NIM.200602110102



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

2025

**PENGARUH KONSENTRASI NUTRIEN NPK DAN LAMA
FERMENTASI TERHADAP KADAR BIOETHANOL NIRA SIWALAN**

(*Borassus flabellifer* L.)

SKRIPSI

Oleh :

Muhammad Hafizul Haqiqi

NIM. 200602110102

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

**PENGARUH KONSENTRASI NUTRIEN NPK DAN LAMA
FERMENTASI TERHADAP KADAR BIOETHANOL NIRA SIWALAN**

(Borassus flabellifer L.)

SKRIPSI

Oleh :

MUHAMMAD HAFIZUL HAQIQI

NIM.200602110102

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

Tanggal : 10 Februari 2025

Pembimbing 1



Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002

Pembimbing 2



Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPPPK. 19821120 2025 211035



Mengetahui,
Ketua Program Studi



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

**PENGARUH KONSENTRASI NUTRIEN NPK DAN LAMA
FERMENTASI TERHADAP KADAR BIOETHANOL NIRA SIWALAN**

(*Borassus flabellifer* L.)

SKRIPSI

Oleh :

MUHAMMAD HAFIZUL HAQIQI

NIM.200602110102

Telah dipertahankan

Di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu
Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal...*Feb*... 2025

Penguji Utama	<u>Ir. Liliek Harianie, M.P</u> NIP. 196209011998032001	(<i>Hinie</i>)
Ketua Penguji	<u>Dr. Muhammad Saefi, M.Pd</u> NIP. 19920101 202203 1 002	(<i>Ans</i>)
Sekretaris Penguji	<u>Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 197410182003122002	(<i>Evika</i>)
Anggota Penguji	<u>Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I</u> NIPPPK. 19821120 2025 211035	(<i>Mukhlis</i>)



**Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi**

Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rida-Nya sehingga skripsi berjudul “Pengaruh Konsentrasi Nutrien Npk Dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Bioethanol Nira Siwalan (*Borassus Flabellifer* L.)” ini dapat diselesaikan dengan tepat waktu. Shalawat serta salam senantiasa terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW sebagai panutan hidup yang luar biasa. Secara khusus, penulis mempersembahkan pencapaian ini untuk diri penulis sendiri sebagai bentuk penghargaan atas setiap tetes keringat dan semangat pantang menyerah yang selama ini dijaga. Di balik itu, penulis meyakini bahwa proses ini didukung oleh tangan-tangan baik di sekitar penulis. Maka, dengan penuh kerendahan hati,

1. Ibu penulis. Ibu Murwati yang telah mendukung, memotivasi serta mendoakan penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Teman seperjuangan Biologi B yang saling menyemangati satu sama lain, memberikan informasi, motivasi, membantu, serta selalu ada dalam keadaan susah maupun senang, terutama Shovi dan Elma yang juga memberi saran dalam penulisan.
3. Teman-teman kontrakan Wawuk and Toretto meliputi Jon, Abah, Pace, Gondrong, Kibul dan Gok yang selalu mendukung tiap waktu, memberi tawa dikala sedih, selalu ada ketika susah, semoga di perjalanan selanjutnya dapat bertemu dalam keadaan sukses.
4. Sahabat penulis Arik, Mufid, Mamang dan Thoqif yang selalu memberikan dukungan kepada penulis.
5. Terakhir, untuk diri sendiri Muhammad Hafizul Haqiqi terima kasih telah mampu menyelesaikan perjalanan panjang dalam menuntut ilmu.

Sekali lagi, penulis menyampaikan apresiasi terdalam kepada seluruh pihak yang terlibat. Besar harapan penulis agar hasil penelitian dalam skripsi ini dapat memberikan manfaat nyata di masa depan serta menjadi referensi inspiratif bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang terkait. Aaamiin.
Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Hafizul Haqiqi
Nim : 200602110050
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi Nutrien Npk Dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Bioethanol Nira Siwalan (*Borassus Flabellifer* L.)

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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang.....

Yang membuat pernyataan



Hafizul

Muhammad Hafizul Haqiqi
NIM. 200602110102

PEDOMAN PENULISAN SKRIPSI

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

MOTTO

“Aku membahayakan nyawa Ibu untuk lahir ke dunia, jadi tidak mungkin aku tidak ada artinya”

~Penulis

Pengaruh Konsentrasi Nutrien NPK dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Bioethanol Nira Siwalan (*Borassus Flabellifer* L.)

Muhammad Hafizul Haqiqi, Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

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

ABSTRAK

Bioetanol salah satu jenis bahan bakar nabati yang mempunyai potensi untuk dikembangkan yang bersifat ramah lingkungan dan dapat diperbarui. Bahan tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai sumber bioetanol adalah siwalan (*Borassus flabellifer* L.), khususnya nira yang diperoleh dari penyadapan bunga. Proses fermentasi pada pembuatan bioetanol ini menggunakan bantuan mikroorganisme yakni *Saccharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari ragi roti (*yeast*). Penambahan pupuk NPK berfungsi sebagai nutrisi bagi pertumbuhan mikroba, sehingga proses metabolisme dari mikroba dalam mengoksidasi gula menjadi etanol lebih maksimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian nutrient NPK dan lama waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol dan nilai pH fermentasi nira siwalan. Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor dan dua kali ulangan. Faktor penambahan nutrient NPK yang digunakan pada penelitian ini adalah 0 gram, 0,2 gram, 0,4 gram, dan 0,6 gram sedangkan faktor lama fermentasi yakni 48 jam, 72 jam dan 96 jam. Data terkait variabel terikat dianalisis menggunakan SPSS. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh nyata dari kombinasi perlakuan pemberian nutrient NPK dan lama waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol. Kadar Bioetanol tertinggi diperoleh pada lama fermentasi 48 jam dan penambahan urea 0,6 gram (12%). Kombinasi perlakuan pemberian nutrient NPK dan lama waktu fermentasi berpengaruh pada nilai pH substrat fermentasi yang menyebabkan nilai pH menurun setiap hari selama fermentasi berlangsung.

Kata kunci : kadar bioetanol, nutrient NPK, lama fermentasi, nira siwalan, pH.

The Effect of NPK Nutrient Concentration and Fermentation Duration on the Bioethanol Content of Palm Sap (*Borassus Flabellifer* L.)

Muhammad Hafizul Haqiqi, Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

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

ABSTRACT

Bioethanol is a type of biofuel that has the potential to be developed as an environmentally friendly and renewable energy source. One plant that can be used as a source of bioethanol is the siwalan palm (*Borassus flabellifer* L.), specifically the sap obtained from tapping its flowers. The fermentation process in bioethanol production uses microorganisms, namely *Saccharomyces cerevisiae*, obtained from baker's yeast. The addition of NPK fertilizer serves as nutrients for microbial growth, thereby maximizing the metabolic process of microbes in oxidizing sugar into ethanol. The purpose of this study was to determine the effect of NPK nutrient addition and fermentation time on the bioethanol content and pH value of siwalan sap fermentation. This research is an experimental study. It uses a completely randomized design with two factors and two replicates. The NPK nutrient addition factors used in this study are 0 grams, 0.2 grams, 0.4 grams, and 0.6 grams, while the fermentation duration factors are 48 hours, 72 hours, and 96 hours. Data related to the dependent variables were analyzed using SPSS. The results showed that the combination of NPK nutrient application and fermentation duration had a significant effect on bioethanol content. The highest bioethanol content was obtained at a fermentation time of 48 hours and the addition of 0.6 grams of urea (12%). The combination of NPK nutrient treatment and fermentation time affected the pH value of the fermentation substrate, causing the pH value to decrease every day during fermentation.

Keywords: bioethanol content, NPK nutrients, fermentation duration, palm sap, pH.

(*Borassus flabellifer* L.) ومدة التخمر على محتوى البيوإيثانول في عصارة النخيل NPK تأثير تركيز المغذيات

محمد حافظ الحقي، د. إيفيكا ساندري سافيتري، عضو البرلمان، د. م. مخلص فخر الدين، م. س. إي.
برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية، مالانج

الملخص

البيوإيثانول هو نوع من أنواع الوقود الحيوي الذي يمكن تطويره كمصدر للطاقة المتجددة والصدقية للبيئة. أحد النباتات وتحديدًا العصارة التي، (*Borassus flabellifer* L.) التي يمكن استخدامها كمصدر للبيوإيثانول هو نخيل السووالان يتم الحصول عليها من نضج أزهاره. تستخدم عملية التخمر في إنتاج البيوإيثانول كائنات دقيقة، وهي كمغذيات لنمو NPK التي يتم الحصول عليها من خميرة الخباز. تُستخدم الأسمدة، *Saccharomyces cerevisiae*، الكائنات الحية الدقيقة، مما يزيد من عملية التمثيل الغذائي للكائنات الحية الدقيقة في أكسدة السكر إلى إيثانول. كان الهدف ووقت التخمر على محتوى البيوإيثانول وقيمة الرقم NPK من هذه الدراسة هو تحديد تأثير إضافة المغذيات الهيدروجيني لتخمير عصارة نخيل السووالان. هذه الدراسة هي دراسة تجريبية. تستخدم تصميمًا عشوائيًا تمامًا مع المستخدمة في هذه الدراسة هي 0 جرام و 0.2 جرام و 0.4 جرام NPK عاملين وتكرارين. عوامل إضافة المغذيات و 0.6 جرام، بينما عوامل مدة التخمر هي 48 ساعة و 72 ساعة و 96 ساعة. تم تحليل البيانات المتعلقة بالمتغيرات بنسبة 5%. أظهرت النتائج أن (DMRT) واختبار دنكان متعدد النطاقات ANOVA تلاه، SPSS التابعة باستخدام ومدة التخمر كان له تأثير كبير على محتوى البيوإيثانول. تم الحصول على أعلى NPK الجمع بين استخدام المغذيات محتوى من البيوإيثانول عند مدة تخمر 48 ساعة وإضافة 0.6 جرام من اليوريا (12%). (أثر الجمع بين معالجة المغذيات ومدة التخمر على قيمة الرقم الهيدروجيني لركيزة التخمر، مما تسبب في انخفاض قيمة الرقم الهيدروجيني كل NPK يوم أثناء التخمر.

مدة التخمر، عصارة النخيل، الرقم الهيدروجيني، NPK الكلمات المفتاحية: محتوى الإيثانول الحيوي، مغذيات

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmanirrohim. Segala puji bagi Allah, Tuhan semesta alam, karena berkat rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “PENGARUH KONSENTRASI NUTRIEN NPK DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KADAR BIOETHANOL NIRA SIWALAN (*Borassus flabellifer* L.)”. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, yang telah menegakkan agama Islam hingga akhir zaman. Aamiin.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian tugas akhir ini tidak terlepas dari bimbingan, dukungan, dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nur Diana, M.Si., Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. H. Agus Mulyono, M.Si., Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si., Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. dan Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I., selaku pembimbing I dan II, yang telah dengan sabar dan ikhlas membimbing penulis hingga tugas akhir ini terselesaikan.
5. Dr. Kiptiyah, M.Si., Dosen wali, atas bimbingan dan masukan yang membantu penulis menyelesaikan studi dengan baik.
6. Ibu Murwati, yang telah memberikan doa, dukungan, dan motivasi selama penyusunan skripsi.

Semoga semua kebaikan yang diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Allah SWT. Penulis telah berusaha menulis skripsi ini dengan sebaik mungkin, dan segala saran maupun kritik yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang , Februari 2026

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENULISAN SKRIPSI.....	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
المخلص.....	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	2
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Hipotesis.....	7
1.5 Manfaat	7
1.6 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Siwalan (<i>Borassus flabellifer</i> L.).....	6
2.2 Nira Siwalan	8
2.3 Bioethanol	9
2.4 Tinjauan Bioetanol Dalam Pandangan Islam	11
2.5 Ragi	13
2.6 Fermentasi	15
2.7 NPK.....	18
2.8 Analisis Kadar Ethanol Berdasarkan Nilai Gravitasi (<i>Specific Gravity</i>).....	19

BAB III METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Rancangan Penelitian	21
3.2 Variabel Penelitian	22
3.3 Variabel Bebas	22
3.4 Variabel Terikat.....	22
3.5 Waktu dan Tempat	22
3.6 Alat dan Bahan	23
3.6.1 Alat.....	23
3.6.2 Bahan	23
3.7 Prosedur Penelitian.....	23
3.7.1 Sterilisasi.....	23
3.7.2 Pengambilan Nira Siwalan.....	23
3.7.3 Pemberian Perlakuan Nutrisi NPK dan Waktu Fermentasi	23
3.7.4 Pengukuran pH Fermentasi.....	24
3.7.5 Destilasi Hasil Fermentasi	24
3.7.6 Analisis Kadar Bioethanol	24
3.7.7 Analisis Data Menggunakan SPSS.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Pengaruh Interaksi Konsentrasi NPK dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioethanol Nira Siwalan (<i>Borassus flabellifer</i> L.)	26
4.2. Pengaruh Interaksi Konsentrasi NPK dan Waktu Fermentasi Terhadap pH Fermentasi Nira Siwalan (<i>Borassus flabellifer</i> L.).....	31
4.3 Pemanfaatan Nira Siwalan sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioethanol dalam Perspektif Al-Qur'an	36
BAB V PENUTUP.....	38
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Pohon Siwalan.....	6
Gambar 4. 1 Grafik Interaksi penambahan NPK dan Lama Waktu Fermentasi Terhadap pH Fermentasi Nira Siwalan	27
Gambar 4. 2 (A) nira siwalan sebelum fermentasi (B) nira siwalan setelah fermentasi.....	31
Gambar 4. 3 Grafik Interaksi penambahan NPK dan Lama Waktu Fermentasi Terhadap pH Fermentasi Nira Siwalan	33

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kadar gula dari nira tanaman Palmae	8
Tabel 3. 1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Isolat Khamir Dan Waktu Fermentasi.....	18
Tabel 4. 1 Pengaruh interaksi Konsentrasi NPK dan lama waktu fermentasi terhadap kadar bioethnaol nira siwalan (<i>Borassus flabellifer L.</i>)	26
Tabel 4. 2 Rata-rata nilai pH substrat fermentasi yang dipengaruhi Konsentrasi NPK dan waktu fermentasi	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data hasil kadar etanol	44
Lampiran 2. Data hasil derajat keasaman (pH).....	45
Lampiran 3. Hasil analisis statistik pengaruh kombinasi konsentrasi NPK dan lama waktu fermentasi terhadap kadar etanol.....	46
Lampiran 4. Hasil analisis statistik pengaruh kombinasi konsentrasi NPK dan lama waktu fermentasi terhadap pH fermentasi.....	51
Lampiran 5. Perhitungan kadar bioetanol berdasarkan gravitasi jenis sampel menggunakan piknometer	52
Lampiran 6. Proses pengambilan sampel dan pasteurisasi	54
Lampiran 7. Proses penimbangan sebelum perlakuan terhadap sampel	55
Lampiran 8. Proses fermentasi dan pengukuran pH	56
Lampiran 9. Destilasi fermentasi nira siwalan.....	57
Lampiran 10. Penghitungan kadar bioethanol nira siwalan	58

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bertambahnya populasi secara langsung mempengaruhi meningkatnya penggunaan bahan bakar di berbagai sektor kehidupan. Dampaknya, permintaan akan bahan bakar fosil seperti bensin dan diesel meningkat secara signifikan (Pertamina, 2020) Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (ESDM) (2023) merilis penggunaan energi Indonesia mencapai 1,2 miliar ekuivalen barel minyak dengan minyak bumi yang paling banyak dikonsumsi sebesar 39,77%. Penggunaan bahan bakar fosil yang berlebihan juga berdampak pada lingkungan meliputi polusi udara, penipisan ozon, serta gelombang panas (Azni dkk., 2023). Oleh sebab itu, dibutuhkan sumber energi terbarukan yang berkelanjutan, salah satunya yaitu Bahan Bakar Nabati (BBN).

Bioetanol, salah satu jenis bahan bakar nabati yang mempunyai potensi untuk dikembangkan. Sebagai energi terbarukan, bioetanol dipandang mampu memberikan harapan baru di tengah krisis energi global dan penurunan kualitas lingkungan. Pada 2016, produksi bioetanol dunia mencapai 100,2 miliar liter. Angka ini terus naik setiap tahun, dan diperkirakan konsumsi serta produksinya secara global mendekati 134,5 miliar liter pada 2024 (Bušić dkk., 2018). Tren ini menunjukkan bahwa bioetanol semakin diakui kebermanfaatannya. Selain itu, bioetanol dapat mengurangi emisi CO₂ hingga sekitar 18 persen (Komaryati. S, 2010). Agar produksinya efisien, proses pembuatan bioetanol perlu dirancang seoptimal mungkin, terutama pada tahap fermentasi.

Pemilihan bahan baku, jenis organisme, nutrisi dan pengontrolan saat fermentasi sangat berpengaruh dalam meningkatkan efisiensi saat produksi bioethanol (Tse dkk., 2021). Contoh bahan tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai sumber bioetanol adalah siwalan (*Borassus flabellifer* L.), khususnya nira yang diperoleh dari penyadapan bunganya. Nira siwalan mengandung gula sekitar 15 persen (Sholikhah, 2010), angka yang sebanding dengan kadar gula pada nira tanaman lain. Sebagai perbandingan, nira kelapa mengandung total gula 12–18 persen, nira sorgum sekitar 11–16 persen, dan nira tebu 9–17 persen (Komaryati. S,

2010). Menurut Haisya dkk., (2011) mikroorganisme membutuhkan kadar gula sekitar 10 persen untuk mencapai proses fermentasi yang optimal.

Nira siwalan merupakan substrat yang sangat mudah terfermentasi karena kandungan gula yang tinggi dan adanya mikroba fermentatif seperti *Saccharomyces cerevisiae* di lingkungan nira hasil sadapan. Dalam keadaan segar nira memiliki pH mendekati netral dan kadar gula tinggi, tetapi ketika dibiarkan tanpa perlakuan, fermentasi spontan mulai terjadi dalam hitungan jam setelah penyadapan akibat aktivitas ragi dan bakteri yang berubah gula menjadi etanol dan asam organik selama beberapa hari, sehingga nira berubah menjadi *palm wine* atau *tuak* jika tidak diolah segera (Hai dkk., 2024).

Pengelolaan potensi tanaman yang baik dan pemanfaatan sumberdaya alam secara bijak dan tidak merusak lingkungan telah Allah SWT. jelaskan dalam dalam surat QS. Al-A'raf (7):56)

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

Artinya : “Janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah diatur dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat dengan orang-orang yang berbuat baik?”

Menurut tafsir Shihab (2002) dalam tafsir Al-Mishbah, ayat ini merupakan perintah agar manusia menjaga bumi dan tidak melakukan Tindakan yang menimbulkan kerusakan setelah Allah menjadikannya seimbang. Kerusakan yang dimaksud tak hanya sebatas merusak alam, melainkan juga perilaku manusia yang merusak tatanan kehidupan seperti keserakahan, eksploitasi berlebihan dan pemanfaatan alam yang tidak mempertimbangkan keberlanjutan. Quraisy Shihab menekankan bahwa bumi Adalah Amanah dan manusia diberi tanggung jawab untuk menjaga keseimbangan, oleh karena itu segala bentuk aktivitas yang menyebabkan pencemaran lingkungan bertentangan dengan nilai-nilai agama. Ayat ini menunjukkan bahwa menjaga lingkungan Adalah bagian dari ibadah dan wujud kesadaran manusia atas Rahmat Allah. Sehingga Upaya pengembangan bioethanol sebagai energi yang lebih bersih dan ramah lingkungan sejalan dengan pesan ayat ini sebagai bentuk menjaga kelestarian bumi.

Faktor yang mendukung proses fermentasi bioethanol yaitu faktor nutrisi dalam upaya optimasi produksi bioetanol. Nutrisi yang diperlukan oleh mikroba diantaranya yaitu nutrisi makro berupa unsur N, P, dan K Penambahan pupuk NPK

berfungsi sebagai nutrisi bagi pertumbuhan mikroba, sehingga proses metabolisme dari mikroba dalam mengoksidasi gula menjadi etanol lebih maksimal. Fosfor (P) merupakan komponen pembentukan ATP sebagai sumber energi utama bagi mikroorganisme selama fermentasi. Selain itu, fosfor juga terlibat dalam sintesis asam nukleat, lipid dan enzim yang penting dalam proses fermentasi. Kalium juga merupakan ion penting dalam regulasi tekanan osmotik dalam sel mikroorganisme. selama fermentasi, mikroorganisme sering menghadapi variasi kondisi lingkungan dan kalium dapat membantu menjaga stabilitas tekanan osmotik yang memungkinkan mikroorganisme untuk tetap aktif dan berfungsi dengan baik (Ngastiti, 2024). Selain itu, kalium juga diketahui mempercepat laju konsumsi glukosa dalam *Saccharomyces*, Tingkat konsumsi glukosa secara signifikan lebih cepat dengan adanya kalium dibandingkan jika tidak ada kalium pada pH rendah (Kudo dkk., 1998) Kalium juga dapat berperan untuk asimilasi glukosa, yaitu merubah glukosa menjadi senyawa organik yang lebih kompleks (Da Silva dkk., 1992).

Selain faktor nutrisi, pH fermentasi memiliki peran dalam menentukan keberhasilan produksi bioetanol. pH yang ideal untuk aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* berada pada kisaran 4,0–5,5 (Narendranath & Power, 2005) Perubahan pH yang signifikan selama fermentasi dapat menurunkan aktivitas enzim kunci seperti alkohol dehidrogenase dan menghambat pertumbuhan sel ragi. Oleh karena itu, menjaga kestabilan pH merupakan aspek penting dalam pengendalian proses fermentasi agar konversi gula menjadi etanol berlangsung optimal (Andrio dkk., 2015).

Penurunan pH sering terjadi akibat akumulasi asam organik selama fermentasi, terutama pada substrat alami seperti nira siwalan yang kaya mineral dan senyawa organik (Tamimi dkk., 2025). Ketidakterkendalinya perubahan pH dapat menyebabkan stress osmotik dan penurunan kemampuan ragi menghasilkan etanol (Kumari dkk., 2022). Dengan demikian, kombinasi antara pengaturan nutrisi pupuk NPK dan kontrol waktu fermentasi diperkirakan dapat memengaruhi dinamika pH fermentasi secara signifikan, yang pada akhirnya berdampak pada kadar bioetanol yang dihasilkan.

Lama fermentasi menjadi salah satu faktor yang memengaruhi proses fermentasi etanol. Namun, hal tersebut tidak berlangsung secara terus menerus. Proses fermentasi akan mencapai titik puncak dimana konsentrasi etanol yang akan dihasilkan tinggi. Setelah mencapai di titik maksimal maka konsentrasi etanol akan mulai menurun (Azmi dkk., 2025).

Pemilihan waktu fermentasi 2, 3, 4, dan 5 hari didasarkan pada tahapan pertumbuhan mikroorganisme selama proses fermentasi, mulai dari fase adaptasi, fase eksponensial, hingga fase stasioner. Menurut Umam (2018), fermentasi nira menunjukkan bahwa kadar bioetanol tertinggi diperoleh pada hari ke-2, yang menandakan bahwa pada waktu tersebut mikroba berada pada kondisi metabolik paling aktif dalam mengonversi gula menjadi etanol. Hari ke-3 dan ke-4 mencerminkan fase lanjutan ketika sebagian nutrisi mulai menurun dan akumulasi etanol mulai menghambat aktivitas sel, sedangkan hari ke-5 mewakili fase stasioner lanjut yang ditandai dengan keterbatasan substrat dan peningkatan senyawa toksik sehingga produksi etanol cenderung stagnan atau menurun. Oleh karena itu, rentang waktu 2 hingga 5 hari dipilih untuk membandingkan kondisi optimum (hari ke-2) dengan fase setelah puncak produksi, serta untuk melihat pola penurunan produksi pada fermentasi yang terlalu lama dan interaksinya dengan pemberian NPK.

Pupuk NPK dipilih sebagai sumber nutrisi dalam penelitian ini didasarkan pada pertimbangan bahwa NPK merupakan nutrisi majemuk yang mengandung unsur nitrogen (N), fosfor (P), dan kalium (K) secara simultan, sehingga mampu menyediakan kebutuhan mineral mikroba secara lebih lengkap dibandingkan dengan garam tunggal seperti kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) yang hanya menyuplai fosfor dan kalium, atau magnesium sulfat (MgSO_4) yang hanya menyediakan magnesium. Nitrogen berperan dalam sintesis protein dan enzim ragi, fosfor penting dalam pembentukan ATP dan metabolisme energi, sedangkan kalium berfungsi dalam aktivasi enzim dan keseimbangan ion sel, sehingga keberadaan ketiga unsur ini secara bersamaan sangat diperlukan untuk mendukung metabolisme fermentatif *Saccharomyces cerevisiae*. Sebaliknya, penggunaan KH_2PO_4 dan MgSO_4 sebagai nutrisi yang hanya memenuhi sebagian kebutuhan mineral mikroba sehingga sering memerlukan penambahan nutrisi lain agar fermentasi berlangsung optimal. Shahirah dkk (2015) menyebutkan bahwa

penambahan kombinasi nutrisi mineral memberikan hasil etanol yang lebih tinggi dibandingkan kondisi tanpa nutrisi atau penggunaan satu jenis garam mineral saja. Oleh karena itu, penggunaan NPK dalam penelitian ini dipandang lebih praktis dan berpotensi memberikan efek yang lebih menyeluruh terhadap aktivitas metabolisme ragi dibandingkan penggunaan KH_2PO_4 atau MgSO_4 secara terpisah.

Pemilihan perlakuan nutrisi NPK menggunakan rentang dosis pada 0; 0,2; 0,4; 0,6 g dipilih untuk menggambarkan respon mikroba terhadap ketersediaan nitrogen, fosfor, dan kalium dari kondisi defisiensi hingga mendekati optimum. Pada perlakuan 0 g NPK, medium berada pada kondisi tanpa suplementasi nutrisi sehingga menggambarkan fermentasi alami tanpa dukungan nutrisi tambahan. Dosis 0,2 g dan 0,4 g digunakan sebagai tingkat menengah untuk melihat respons pertumbuhan mikroba dan produksi etanol secara bertahap. Sementara itu, dosis 0,6 g NPK dipilih sebagai dosis tertinggi yang masih aman bagi aktivitas ragi, karena berdasarkan hasil penelitian oleh Utami (2023), dosis ini memberikan hasil etanol tertinggi sebelum terjadi penurunan akibat kemungkinan stres ionik atau ketidakseimbangan nutrisi.

Dosis ragi sebesar 4 gram dipilih karena pada jumlah tersebut ragi berada pada kondisi optimum untuk melakukan fermentasi secara efektif. Berdasarkan Umam (2018), dosis ini mampu menghasilkan kepadatan sel awal yang cukup untuk mempercepat proses konversi gula menjadi etanol tanpa menyebabkan kompetisi nutrisi atau penurunan aktivitas akibat kelebihan inokulum. Dengan demikian, penggunaan ragi 4 gram diharapkan dapat menghasilkan proses fermentasi yang stabil dan efisien.

Nuraini & Ratni (2023) menyebutkan bahwa proses pembuatan bioetanol menggunakan metode SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*) dengan fermentasi dalam waktu 5 hari dan penambahan nutrisi NPK menghasilkan kadar etanol tertinggi, yaitu 14,3 persen. Penelitian Umam (2018) juga menemukan bahwa etanol mencapai konsentrasi maksimal, yakni 34,9 persen, pada waktu fermentasi 48 jam pada substrat nira siwalan. Utami (2023) menambahkan bahwa pada nira siwalan, kadar bioetanol terbaik muncul pada fermentasi 48 jam dengan penambahan urea sebesar 0,6 gram (13 persen) menggunakan substrat nira siwalan.

Berdasarkan berbagai temuan tersebut, penelitian ini memanfaatkan nira siwalan sebagai bahan dasar produksi bioetanol. Penelitian ini berjudul “Pengaruh Konsentrasi Nutrien NPK dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol Nira Siwalan”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat interaksi antara kombinasi konsentrasi nutrisi NPK dan waktu fermentasi terhadap kadar bioetanol nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.)?
2. Apakah terdapat interaksi antara kombinasi konsentrasi NPK dan waktu fermentasi terhadap nilai pH fermentasi bioetanol nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.)?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi nutrisi NPK dan lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan dari nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.).
2. Membuktikan adanya interaksi konsentrasi NPK dan waktu fermentasi terhadap nilai pH fermentasi bioetanol nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.)?

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Terdapat pengaruh interaksi antara kombinasi konsentrasi nutrisi NPK dan lama fermentasi terhadap kadar bioetanol pada nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.).
3. Terdapat interaksi kombinasi konsentrasi NPK dan waktu fermentasi terhadap nilai pH fermentasi bioetanol nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.)?

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Menyediakan pilihan baru sebagai bahan baku dalam produksi bioetanol.
2. Meningkatkan pemanfaatan potensi sumber daya alam di wilayah Pantura Jawa Timur, khususnya Kabupaten Tuban.
3. Mendukung pengembangan serta inovasi dalam pemanfaatan energi terbarukan.
4. Memberikan kontribusi bagi perkembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, khususnya dalam bidang Biologi.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah:

1. Nira siwalan diperoleh dari petani buah siwalan di Desa Tegalbang, Kecamatan Palang, Kabupaten Tuban.
2. Setiap perlakuan menggunakan sampel nira siwalan sebanyak 200 ml.
3. Ragi yang digunakan adalah ragi roti instan merk “saf-instant”, yang dibeli di toko sembako dan bahan masakan di Kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang sekitar 26°C dengan pH 5.
4. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi limbah sabut siwalan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)



Gambar 2. 1 Pohon Siwalan
(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2024)

Pohon siwalan (*Borassus flabellifer* L.) banyak dijumpai di daerah tropis, khususnya di wilayah Pantura Jawa Timur seperti Tuban, Lamongan, dan Gresik. Tanaman ini memiliki berbagai manfaat dari akar, daun, hingga pucuk dan tandan bunganya. Siwalan dapat tumbuh baik pada ketinggian 0–800 m dpl dengan suhu sekitar 30°C dan membutuhkan curah hujan 500–2000 mm per tahun agar dapat berkembang dengan baik serta beradaptasi di lingkungan yang relatif kering (Sholikhah, 2010).

Pohon siwalan ciri-cirinya diantaranya (Tambunan, 2010) :

a. Akar

Siwalan berakar serabut yang panjang dan besar, batang tunggal silindris yang tegak, dengan tinggi mencapai 25–30 m dan diameter batang setinggi dada sekitar 40–50 cm. Pangkal batang penuh akar samping, dan batang muda berwarna hitam dan ditutupi pangkal tangkai daun yang

b. Daun

Daun siwalan tersusun dari helaian berbentuk kipas yang muncul di bagian ujung batang, biasanya berjumlah sekitar 25 sampai 40 lembar dan tersusun melingkar. Setiap tangkai daun membutuhkan waktu sekitar satu bulan untuk tumbuh. Warna daunnya hijau keabu-abuan dengan ukuran lebar antara 1 hingga 1,5 meter, terdiri atas 60 sampai 80 lipatan. Masing-masing helai didukung oleh tulang daun sepanjang 40–80 cm yang terletak di bagian bawahnya, dengan ujung daun yang meruncing atau bersudut. Tangkai daunnya panjang, tampak keras seperti kayu, dan berwarna coklat hingga hitam, serta terdapat duri pada bagian ujung tangkai.

c. Bunga

Pohon siwalan mulai berbunga saat berusia sekitar 12 tahun, dapat terus menghasilkan bunga hingga umur 20 tahun, dan mampu hidup sampai kurang lebih 100 tahun. Berdasarkan jenis bunganya, siwalan terbagi menjadi pohon jantan dan betina. Bunga jantan muncul dari ketiak daun, umumnya hanya satu, meskipun ada kemungkinan sangat kecil muncul dua tangkai. Bunga jantan tersusun dalam bulir atau tandan berbentuk hampir bulat, dengan panjang 30–60 cm dan diameter 2–5 cm. Satu rangkaian tandan biasanya terdiri atas 4 hingga 15 mayang. Pada pohon betina, terdapat sekitar 4 sampai 10 bunga dalam satu tandan. Ukuran bunganya kecil dan dilapisi daun pelindung (*bractea*) yang nantinya berkembang menjadi buah. Setiap bakal buah memiliki tiga ruang bakal biji, dan bergantung pada proses penyerbukan, buah siwalan dapat berisi satu, dua, atau tiga biji.

d. Buah

Dalam setahun, satu pohon siwalan mampu menghasilkan sekitar 6 sampai 12 tandan buah, setara dengan kurang lebih 200 hingga 300 butir. Buah lontar berbentuk bulat dengan diameter 10–15 cm, awalnya berwarna hijau lalu berubah menjadi ungu sampai hitam ketika matang. Daging buah mudanya (endosperma) manis, bertekstur lembut seperti jeli dan lebih encer, kemudian semakin padat seiring usia buah. Setiap buah siwalan umumnya memiliki tiga biji yang dilindungi oleh cangkang tebal dan keras.

2.2 Nira Siwalan

Nira Siwalan, yang dipanen dari bunga majemuk *spadix* pohon Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) ditemukan di beberapa negara tropis, termasuk Thailand, Malaysia, Indonesia, India, dan Sri Lanka. Nira ini diolah menjadi jus, sirup, dan gula kristal melalui proses pasteurisasi, sterilisasi, dan penguapan. Kandungan gula yang tinggi, serta rasa dan aroma uniknya, menjadikan getah ini produk yang berharga (Saidi dkk., 2021)

Pemanfaatan nira siwalan sangat beragam. Selain dapat dikonsumsi langsung, nira ini juga dapat difermentasi secara alami oleh ragi dan bakteri menjadi minuman tradisional seperti tuak. Proses fermentasi itu pun menghasilkan produk bernilai ekonomi tinggi seperti etanol dan asam asetat, serta gliserin. Lebih jauh lagi, nira dapat diolah menjadi *nata de nira*, yang merupakan bentuk selulosa mikroba yang diproduksi melalui fermentasi oleh bakteri *Acetobacter xylinum*, yang memetabolisme substrat gula dalam media seperti nira (Syam dkk., 2023). Nira siwalan sering dimanfaatkan masyarakat sebagai gula merah untuk makanan local.

Nira dapat diambil dari berbagai sumber pohon aren-arenan, seperti siwalan (*Borassus Flabellifer* L.), Nipah (*Nypa fruticans*) Kelapa (*Cocos nucifera*), Aren (*Arenga pinnata*). Berikut detailnya.

Tabel 2. 1 Kadar gula dari nira tanaman Palmae

Jenis Tanaman	Kadar Gula yang Terkandung dalam Nira (%)	Sumber
Siwalan	10-15	Sholikhah (2010)
Kelapa	10	Adisetya dkk., (2022)
Nipah	15,2-17,1	Effendi dkk., (2014)
Aren	13.9-14.9	Pontoh dkk., (2020)

Nira siwalan sebagai bahan baku pembuatan bioethanol menyiratkan bahwa adanya tumbuhan di bumi yang dapat dimanfaatkan sebagai energi, dalam hal ini sesuai dengan firman Allah dalam surat Yasin [36]:80 :

الَّذِي جَعَلَ لَكُم مِّنَ الشَّجَرِ الْأَخْضَرِ نَارًا فَإِذَا أَنْتُمْ مِنْهُ تُوقَدُونَ

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

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir Al-Mishbah, QS. Yasin [36]:80 menegaskan bahwa Allah menyediakan berbagai sumber energi di alam, bahkan dari bahan yang tampak tidak mungkin seperti “kayu yang hijau” yang dapat menghasilkan api. Ayat ini menunjukkan bahwa Allah membuka peluang bagi manusia untuk menemukan dan memanfaatkan energi dari bahan-bahan alami melalui kemampuan akal dan ilmu pengetahuan. Dalam konteks ini, nira siwalan merupakan salah satu potensi bahan baku yang diberikan Allah—kaya gula, mudah difermentasi, dan melimpah—sehingga sangat layak dikembangkan sebagai sumber bioetanol. Dengan demikian, pengolahan nira siwalan menjadi bioetanol sejalan dengan pesan ayat ini, yaitu memanfaatkan karunia Allah secara bijak untuk menghasilkan energi yang bermanfaat dan lebih ramah lingkungan.

Nira siwalan berupa cairan manis yang dihasilkan dari tandan bunga pohon siwalan dan menjadi medium yang kaya akan mikroorganisme alami. Mikroorganisme yang umum ditemukan meliputi khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan dalam fermentasi etanol (Pammi dkk., 2021). Selain itu, bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* sp. turut hadir dan berfungsi dalam produksi asam laktat yang memengaruhi rasa serta kestabilan nira. Bakteri asam asetat seperti *Acetobacter* sp. juga sering terdeteksi dan berperan dalam oksidasi etanol menjadi asam asetat selama proses fermentasi alami (Padhan & Panda, 2020). Keberadaan mikroorganisme ini terjadi secara alami karena kandungan gula yang tinggi pada nira siwalan menciptakan lingkungan ideal bagi pertumbuhan dan aktivitas metabolisme.

Nira siwalan (*Borassus flabellifer*) kaya akan gula yang dapat dimanfaatkan dalam produksi bioetanol, terutama karena kandungan glukosa yang tersedia memberi substrat langsung untuk fermentasi. Analisis terhadap nira siwalan menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi glukosa mencapai sekitar 4,99 g/L (sekitar 0,499 % w/v), menjadikannya sebagai komponen yang potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol.

2.3 Bioethanol

Bioetanol dihasilkan melalui fermentasi bahan baku kaya gula atau karbohidrat, di mana mikroorganisme mengubahnya menjadi etanol. Produk ini digunakan sebagai sumber energi alternatif yang lebih bersih dan berkelanjutan

dibandingkan bahan bakar fosil konvensional (Pasotti dkk., 2017). Etanol juga dikenal sebagai etil alkohol (C_2H_5OH) memiliki karakteristik mirip dengan bensin seperti mudah terbakar, mudah menguap, dan tidak karsinogenik namun memiliki dampak pencemaran yang lebih rendah. Terdapat beberapa generasi bioetanol yang mengalami evolusi dari bahan yang digunakan. Generasi pertama bersumber dari bahan baku pangan, generasi kedua bersumber dari lignoselulosa dan limbah industri, generasi bersumber dari alga, serta generasi keempat bersumber dari alga dan mikroorganisme lain (Anugrah dkk., 2020)

Konsumsi bioetanol dunia pada tahun 2022 mencapai lebih dari 100 miliar liter, dengan Amerika Serikat dan Brazil sebagai produsen terbesar. Tren ini diperkirakan akan terus meningkat seiring penerapan kebijakan energi hijau dan target net-zero emission pada tahun 2050 (IEA, 2023). Negara-negara seperti Tiongkok, India, dan Thailand juga memperluas produksi bioetanol berbasis sumber daya lokal untuk mengurangi impor minyak.

Bioetanol memiliki keunggulan dibandingkan bahan bakar fosil, antara lain sifatnya yang dapat diperbarui, pembakaran yang lebih bersih, dan dapat diproduksi dari berbagai sumber biomassa termasuk tanaman pangan, limbah pertanian, dan bahan baku non-pangan. Dari perspektif lingkungan, pembakaran bioetanol menghasilkan emisi CO_2 yang netral secara karbon karena gas yang dilepaskan setara dengan yang diserap tanaman selama fotosintesis (Zabed dkk., 2020).

Produksi bioetanol dapat dilakukan melalui dua jalur utama, yang pertama adalah fermentasi gula sederhana dari bahan baku seperti tebu, jagung, atau nira. Kedua adalah konversi pati atau selulosa menjadi gula sebelum difermentasi. Proses berbasis gula langsung, seperti pada nira siwalan, relatif lebih sederhana karena tidak memerlukan tahap hidrolisis enzimatis yang kompleks (Tse dkk., 2021).

Permintaan bioetanol di sektor transportasi dipicu oleh regulasi seperti *Renewable Fuel Standard* (RFS) di AS dan *RenovaBio* di Brasil, yang mewajibkan campuran bioetanol dalam bensin. Selain itu, bioetanol digunakan dalam industri kimia untuk pembuatan etil asetat, *etil tersier butil eter* (ETBE), dan pelarut industri (Newes dkk., 2022). Dengan kata lain, bioetanol memiliki pasar yang luas tidak hanya di sektor energi.

Namun, pengembangan bioetanol juga menghadapi tantangan, di antaranya biaya produksi yang masih relatif tinggi, persaingan penggunaan bahan baku dengan pangan, serta keterbatasan infrastruktur distribusi. Oleh karena itu, strategi produksi harus mengutamakan bahan baku non-pangan atau yang kurang dimanfaatkan secara komersial, seperti nira dari pohon siwalan yang tumbuh liar (Subagyo dkk., 2021).

Produksi bioetanol yang efisien memerlukan pemahaman mendalam tentang bioteknologi fermentasi, termasuk pemilihan mikroorganisme yang tepat, optimasi kondisi proses, serta penambahan nutrisi pendukung. Salah satu inovasi yang mulai diteliti adalah penggunaan pupuk NPK sebagai sumber nitrogen anorganik dalam medium fermentasi untuk meningkatkan produktivitas etanol (Rojo dkk., 2023)

Nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) memiliki kandungan gula alami tinggi yang membuatnya sangat potensial sebagai bahan baku bioetanol. Selain itu, pohon siwalan mampu bertahan di kondisi tanah marginal dan iklim kering, sehingga cocok dikembangkan di wilayah Indonesia bagian timur. Keunggulan ini memberi peluang untuk menciptakan industri bioetanol berbasis sumber daya lokal yang tahan iklim (Gnanavelrajah dkk., 2025). Pengembangan bioetanol dari nira siwalan bukan hanya relevan dari sisi energi, tetapi juga dapat menjadi bentuk pelestarian pohon siwalan sebagai bagian dari kearifan lokal dan keanekaragaman hayati Indonesia. Dengan adanya nilai tambah ekonomi dari nira, masyarakat akan lebih terdorong untuk memelihara dan membudidayakan pohon ini.

2.4 Tinjauan Bioetanol Dalam Pandangan Islam

Pandangan Islam mengenai bioetanol dari nira siwalan berakar pada prinsip fikih lingkungan yang menekankan tanggung jawab manusia dalam menjaga keseimbangan ekosistem agar tidak terjerumus ke dalam perilaku perusakan alam. Dalam kacamata syariah, inovasi energi terbarukan ini bukan sekadar pencapaian teknis, melainkan bentuk ketaatan untuk menghindari dampak buruk eksploitasi sumber daya yang dilarang Allah SWT dalam QS. Al-Baqarah [2]: 205:

وَإِذَا تَوَلَّى سَعَىٰ فِي الْأَرْضِ لِيُفْسِدَ فِيهَا وَيُهْلِكَ الْحَرْثَ وَالنَّسْلَ ۗ وَاللَّهُ لَا يُحِبُّ الْفُسَادَ

Artinya : “Apabila berpaling (dari engkau atau berkuasa), dia berusaha untuk berbuat kerusakan di bumi serta merusak tanam-tanaman dan ternak. Allah tidak menyukai kerusakan..”

Dalam perspektif Tafsir Al-Mishbah karya M. Quraish Shihab (2002) , QS. Al-Baqarah ayat 205 mengecam segala bentuk eksploitasi yang mengganggu keseimbangan ekosistem dan mengancam keberlangsungan hidup manusia (al-hars dan an-nasl). Pemanfaatan nira siwalan sebagai bioetanol dipandang sebagai manifestasi peran manusia sebagai khalifah yang melakukan perbaikan (ishlah), karena pengolahannya bersifat ramah lingkungan dan tidak merusak pohon asalnya, sehingga selaras dengan prinsip menjaga keserasian alam. Dengan beralih dari energi fosil yang merusak ke bioetanol siwalan yang terbarukan, manusia menjalankan pesan utama Quraish Shihab untuk tidak menjadi pelaku korupsi lingkungan yang dibenci Allah, melainkan menjadi agen yang memastikan sumber daya ekonomi tetap produktif tanpa mengorbankan hak generasi mendatang atas bumi yang sehat.

Dalam kajian Islam, pemanfaatan bioetanol perlu dilihat dari prinsip dasar syariat mengenai penggunaan sumber daya alam. Untuk memperjelas hal tersebut, ayat Al-Qur'an memberikan pedoman yang relevan terkait bagaimana manusia seharusnya memanfaatkan anugerah Allah secara benar. Salah satu ayat yang menjadi landasan adalah QS. Al-Qashash ayat 77

وَابْتَغِ فِيمَا آتَاكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ وَلَا تَنْسَ نَصِيبَكَ مِنَ الدُّنْيَا وَأَحْسِنْ كَمَا أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ وَلَا

تَبْغِ الْفُسَادَ فِي الْأَرْضِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ

Artinya : “Dan, carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (pahala) negeri akhirat, tetapi janganlah kamu lupakan bagianmu di dunia. Berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik kepadamu dan janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan.”

Dalam perspektif Tafsir Al-Mishbah, QS. Al-Qashash [28]: 77 menegaskan mandat bagi manusia untuk mengelola anugerah alam, seperti nira siwalan, dengan prinsip keseimbangan antara orientasi ukhrawi dan pemanfaatan duniawi. Larangan berbuat kerusakan (wala tabghi al-fasada fil ardh) dalam ayat ini dipahami sebagai perintah untuk menjaga keserasian ekosistem, di mana pemanfaatan nira menjadi bioetanol harus menjadi bentuk ihsan (kebaikan) yang tidak mencederai siklus alami pohon maupun lingkungan sekitarnya. Dengan mengonversi potensi alam menjadi energi terbarukan yang rendah emisi, manusia sejatinya sedang mencegah

kerusakan bumi yang lebih luas akibat ketergantungan pada energi fosil, sekaligus membuktikan bahwa kemajuan teknologi dapat berjalan beriringan dengan pelestarian lingkungan sebagaimana yang dicintai oleh Allah SWT.

2.5 Ragi

Selama ribuan tahun, ragi seperti *Saccharomyces cerevisiae* telah dimanfaatkan dalam pembuatan minuman beralkohol, terutama bir dan anggur. Mikroorganisme ini membantu menekan biaya proses distilasi karena mampu menghasilkan etanol dalam jumlah tinggi, produktivitasnya baik, dan tetap hidup pada konsentrasi etanol yang besar. Kini, ragi tersebut juga digunakan dalam produksi bioetanol sebagai bahan bakar dari sumber energi terbarukan (Walker & Stewart, 2016)

Saccharomyces cerevisiae menjadi ragi utama dalam industri etanol karena dapat bertahan pada berbagai kondisi pH, sehingga proses fermentasi lebih tahan terhadap risiko kontaminasi (Wu dkk., 2022). Ragi roti juga kerap dijadikan starter pada pembuatan etanol karena murah dan mudah diperoleh. Meski begitu, ragi roti maupun strain *Saccharomyces cerevisiae* lainnya tidak cukup kompetitif ketika harus bersaing dengan ragi liar yang dapat mengkontaminasi proses industri.

Keberhasilan fermentasi bioetanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*, termasuk ragi roti, sangat bergantung pada berbagai kondisi lingkungan dan faktor fisiologis. Faktor-faktor tersebut mencakup suhu, pH, ketersediaan nutrisi, konsentrasi substrat (gula), waktu fermentasi, serta teknik fermentasi yang digunakan. Ketersediaan nutrisi terutama sumber nitrogen (seperti urea, amonium sulfat), vitamin (terutama biotin dan tiamin), serta mineral seperti fosfor, magnesium, dan seng, sangat penting untuk pertumbuhan sel dan sintesis enzim yang terlibat dalam fermentasi. Kekurangan nutrisi ini dapat menyebabkan keterbatasan pertumbuhan dan menurunkan hasil etanol yang dihasilkan (Tesfaw & Assefa, 2014). Dengan memperhatikan dan mengoptimalkan semua faktor tersebut, penggunaan ragi roti berbasis *Saccharomyces cerevisiae* dalam produksi bioetanol dapat menghasilkan efisiensi tinggi, baik dari sisi kuantitas etanol maupun ketahanan proses terhadap stres lingkungan.

Dalam pertumbuhannya, ragi melalui beberapa fase, yaitu fase lag, log, stasioner dan death. Fase Lag (Adaptasi) merupakan periode transisi di mana sel

khamir melakukan pemrograman ulang metabolisme untuk menyesuaikan diri dengan komposisi kimia media siwalan dan ketersediaan nutrisi NPK (Lopes dkk., 2016). Pada tahap ini, jumlah populasi sel tidak mengalami peningkatan yang nyata, namun terjadi aktivitas internal yang intens berupa sintesis enzim glikolisis dan protein pengangkut nutrisi guna mendukung pertumbuhan cepat di fase berikutnya (Mardiyah., 2022).

Fase Log atau Eksponensial ditandai dengan laju pembelahan sel yang sangat cepat sehingga produksi bioetanol meningkat secara signifikan sebagaimana terlihat pada data penelitian. Sel khamir memanfaatkan fosfor dari NPK untuk regenerasi energi dalam bentuk ATP yang penting bagi metabolisme anaerob (Walker & Stewart, 2016). Selain itu, keberadaan ion kalium berperan meningkatkan toleransi sel terhadap peningkatan kadar etanol awal, sehingga fluks karbon menuju pembentukan bioetanol dapat berjalan secara optimal (Dorta dkk., 2016).

Fase Stasioner tercapai ketika pertumbuhan populasi terhenti akibat adanya limitasi nutrisi esensial dan akumulasi produk metabolit yang mulai menghambat aktivitas sel (Vogelsang dkk., 2019). Pada tahap ini, laju produksi bioetanol mulai melandai karena sel mulai mengalihkan energinya dari pembelahan menjadi mekanisme pertahanan hidup untuk menghadapi stres lingkungan yang meningkat (Liaunard dkk., 2021). Keseimbangan antara jumlah sel yang tumbuh dan sel yang mati dipengaruhi secara kuat oleh konsentrasi awal nutrisi yang diberikan pada media (Komalasari dkk., 2022).

Fase Kematian (*Death Phase*) merupakan kondisi di mana viabilitas sel khamir menurun secara drastis karena lingkungan fermentasi telah menjadi toksik. Faktor utama penyebab kematian sel adalah konsentrasi bioetanol yang tinggi yang mengakibatkan kerusakan pada integritas lipid membran sel dan gangguan fungsi transpor ion (Liu dkk., 2021). Habisnya cadangan energi dan nutrisi dalam media menyebabkan sel mengalami lisis, yang secara akumulatif menghentikan proses fermentasi dan dapat menyebabkan penurunan kadar etanol jika waktu fermentasi dibiarkan terlalu lama (Ariyanti dkk., 2023).

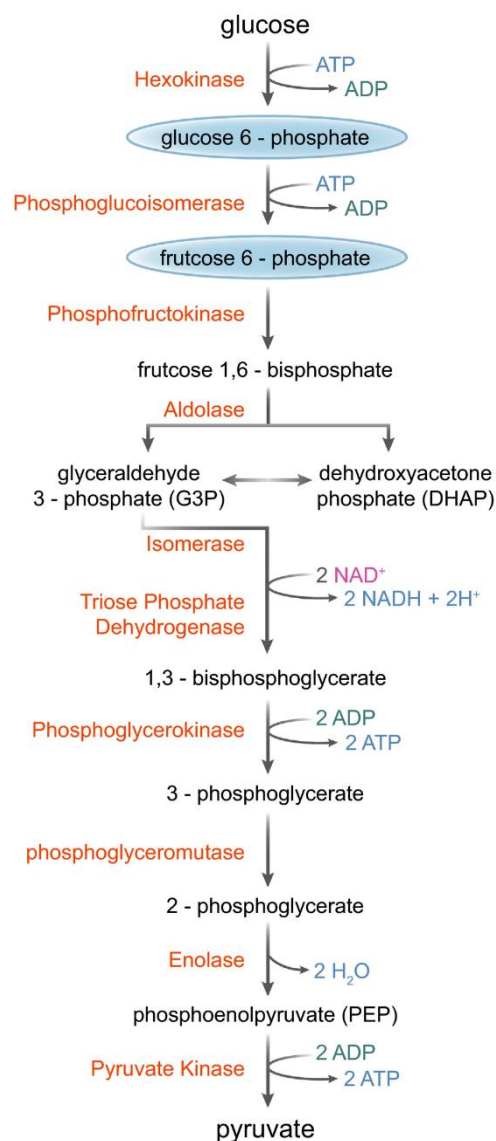
2.6 Fermentasi

Fermentasi adalah proses konversi mikroba terhadap karbohidrat yang dapat difermentasi menjadi etanol dan karbon dioksida, yang menjadi tahap utama dalam produksi bioetanol dari bahan biomassa yang mengandung gula atau monosakarida setelah pretreatment dan (jika perlu) hidrolisis, di mana ragi seperti *Saccharomyces cerevisiae* memainkan peran penting dalam mengubah gula menjadi etanol dalam berbagai mode fermentasi (Tse dkk., 2021). Hermiati dkk. (2020) juga menambahkan bahwa pemecahan satu molekul glukosa menghasilkan dua molekul etanol dan dua molekul CO₂, sedangkan satu molekul xilosa menghasilkan lima molekul etanol dan lima molekul CO₂.

Proses fermentasi etanol oleh mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae* diawali dengan jalur glikolisis, yaitu serangkaian reaksi metabolik yang mengubah gula, khususnya glukosa, menjadi piruvat melalui kerja enzim-enzim seperti heksokinase, fosfofruktokinase, dan piruvat kinase, sambil menghasilkan energi dalam bentuk ATP yang diperlukan sel. Setelah glikolisis, piruvat yang terbentuk kemudian diubah menjadi etanol dan karbon dioksida melalui aktivitas enzim *pyruvate decarboxylase* dan *alcohol dehydrogenase*, yang penting untuk regenerasi NAD⁺ sehingga glikolisis dapat terus berlanjut dan sel tetap menghasilkan energi secara anaerobik (Enhancement of the Efficiency of Bioethanol Production, 2023). Jalur glikolisis dan langkah fermentatif berikutnya ini merupakan inti dari proses produksi bioetanol, karena menentukan seberapa efisien gula substrat dapat diubah menjadi etanol oleh ragi selama fermentasi. Kondisi lingkungan seperti pH dan suhu turut mempengaruhi aktivitas enzim-enzim ini, sehingga kestabilan parameter tersebut diperlukan untuk memaksimalkan hasil etanol dalam proses fermentasi (Chang dkk., 2018)

Fermentasi didefinisikan sebagai suatu proses metabolik di mana mikroorganisme memecah molekul organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, biasanya tanpa keterlibatan oksigen, dengan tujuan menghasilkan energi (ATP) dan produk metabolit seperti asam organik, alkohol, atau gas melalui aktivitas enzimatik yang dihasilkan mikroba (Hackmann, 2024). Fermentasi etanol dibedakan menjadi tiga jenis berdasarkan teknologinya, yaitu Separated Hydrolysis and Fermentation (SHF), *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF),

dan *Simultaneous Saccharification and Co-fermentation* (SSCF). Pada metode SHF, hidrolisis substrat dilakukan secara terpisah dengan proses fermentasi etanol yang memungkinkan hidrolisis dilakukan pada suhu tinggi sesuai lingkungan optimal enzim. Sedangkan proses fermentasi dapat dilakukan dengan suhu yang lebih rendah menyesuaikan kondisi optimal mikroorganisme (Sumardiono dkk., 2023) Pada SSF dan SSCF proses hidrolisis dan fermentasi dapat dilakukan secara bersamaan. Hal yang membedakan pada SSF yaitu proses fermentasi glukosa dan pentosa dilakukan secara terpisah sedangkan pada SSCF dilakukan secara bersamaan.



Gambar 2.6 Proses Glikolisis (Mcguire, 2020)

Glikolisis merupakan rangkaian reaksi biokimia di mana mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae* mengonversi heksosa menjadi piruvat guna menghasilkan energi seluler dalam bentuk ATP melalui fosforilasi tingkat substrat. Dalam proses fermentasi bioetanol, jalur glikolisis tidak hanya berfungsi sebagai penyedia energi, tetapi juga sebagai jalur penyedia kerangka karbon utama, di mana piruvat akan diubah menjadi asetaldehida dan akhirnya direduksi menjadi etanol guna menjaga keseimbangan redoks melalui regenerasi NAD⁺ (Heux dkk., 2006). Laju fluks glikolisis ini sangat bergantung pada aktivitas enzim-enzim kunci seperti fosfofruktokinase dan piruvat kinase, yang efisiensinya dipengaruhi secara signifikan oleh ketersediaan ion logam dan asupan nutrisi dari lingkungan eksternal. Selain itu, regulasi metabolisme ini sangat sensitif terhadap rasio ATP/ADP di dalam sel, di mana kondisi kelelahan nutrisi pada fase lanjut fermentasi dapat menyebabkan hambatan pada jalur glikolisis yang berakibat pada penurunan produktivitas etanol. Optimalisasi komponen nutrisi dalam media fermentasi, seperti penambahan garam mineral, terbukti mampu meningkatkan ekspresi protein pengangkut gula (*hexose transporters*) yang mempercepat masuknya glukosa ke dalam jalur glikolisis (Otterstedtmesn dkk., 2004).

Proses fermentasi dipengaruhi beberapa faktor, salah satunya yaitu jenis mikroorganisme, nutrisi, media, suhu, pH, oksigen, dan kadar gula (Nuraini & Ratni, 2023). Proses fermentasi bioetanol dilakukan secara anaerob agar mikroorganisme dapat memecah karbohidrat menjadi etanol. Terdapat 3 jenis proses fermentasi yaitu proses fermentasi *batch*, *fed batch*, dan *continue* (Awodi dkk., 2022). Fermentasi batch merupakan fermentasi dengan sistem tertutup dimana komposisi awal baik nutrient maupun mikroorganisme yang digunakan hanya ditambahkan pada awal proses dan tidak dilakukan penambahan hingga fermentasi selesai. Sedangkan pada fermentasi *fedbatch* merupakan modifikasi dari fermentasi batch yang mana nutrisi/substrat ditambahkan secara sistematis sehingga volume kultur dalam bioreaktor meningkat. Adapun fermentasi continuous merupakan fermentasi dengan aliran mikroba dan aliran media/substrat berjalan konstan melalui reaktor (Xin dkk., 2019).

2.7 NPK

Pengoptimalan suplementasi nutrisi dalam fermentasi bioetanol melibatkan penyeimbangan konsentrasi berbagai komponen untuk menciptakan lingkungan yang ideal bagi mikroorganisme fermentasi. Hal ini dapat menyebabkan kepadatan sel yang lebih tinggi, peningkatan aktivitas metabolisme, dan akhirnya, peningkatan hasil bioetanol (Gude & Taga, 2020). Pupuk NPK memiliki kandungan N (Nitrogen) 15%, P_2O_5 (Fosfat) 10%, K (Kalium) 12%, dan S (Sulfur) 10% (Mulyadi, 2012). Ketika menggunakan pupuk NPK sebagai suplemen nutrisi dan nira sebagai substrat untuk fermentasi bioetanol, kombinasi ini dapat memberikan nutrisi penting untuk pertumbuhan dan aktivitas ragi, berpotensi Pupuk NPK (Nitrogen-Fosfor-Kalium) dapat bertindak sebagai suplemen nutrisi, memberikan nitrogen nutrisi tambahan berupa nitrogen (N), fosfor (P), dan kalium (K) yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan aktivitas ragi.

Berikut peran pupuk NPK sebagai nutrient dalam proses fermentasi :

1. Nitrogen (N): Nitrogen merupakan salah satu nutrisi esensial yang berperan penting dalam fermentasi karena berfungsi sebagai sumber nutrisi bagi mikroorganisme, mendukung pertumbuhan ragi, sintesis protein, dan metabolisme yang efisien sehingga meningkatkan laju fermentasi dan hasil etanol; kekurangan nitrogen dapat menyebabkan fermentasi terhambat atau terhenti (Li dkk., 2024)
2. Fosfor (P): Fosfor memainkan peran penting dalam metabolisme energi dan sintesis asam nukleat. Fosfor yang disediakan oleh pupuk NPK dapat membantu menjaga pH keseluruhan dan kapasitas penyangga media fermentasi, yang sangat penting untuk pertumbuhan dan fungsi ragi yang optimal (Ansar dkk., 2019).
3. Kalium (K): Kalium sangat penting untuk beberapa reaksi enzimatik, osmoregulasi, dan menjaga potensi elektrokimia sel ragi. Kalium dalam pupuk NPK dapat berkontribusi untuk menjaga lingkungan yang ideal untuk aktivitas ragi selama fermentasi (Mulyadi, 2012)

Penggunaan pupuk NPK (Nitrogen, Fosfor, dan Kalium) dalam produksi bioetanol dapat digunakan untuk melengkapi kebutuhan nutrisi ragi selama fermentasi. Namun, jumlah pasti pupuk yang dibutuhkan akan tergantung pada

beberapa faktor termasuk komposisi nutrisi substrat, strain ragi, dan kondisi spesifik fermentasi (Ansar dkk., 2019). Secara umum, tujuan penambahan NPK adalah untuk menyediakan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan ragi tanpa menghambat proses fermentasi atau menyebabkan reaksi samping yang tidak diinginkan.

2.8 Analisis Kadar Ethanol Berdasarkan Nilai Gravitasi (*Specific Gravity*)

Gravitasi jenis suatu cairan adalah rasio antara massa jenis cairan tersebut dengan massa jenis air pada suhu tertentu. Umumnya, acuan yang digunakan adalah suhu 4°C, karena pada suhu ini massa jenis air mencapai 1000 kg/m³. Secara matematis, nilai gravitasi jenis dapat dituliskan dalam bentuk persamaan (Munson dkk., 2018).

$$SG = \frac{\rho_{\text{Larutan}}}{\rho_{\text{air @4 derajat celcius}}}$$

Kerapatan yang disimbolkan dengan ρ merupakan ukuran kepadatan suatu zat cair, yaitu massa yang terkandung dalam setiap satuan volumenya. Nilai ini dihitung dengan membandingkan massa zat pada volume tertentu dengan volume tersebut (Olson dan Wright, 1993). Walaupun setiap jenis cairan dapat memiliki nilai kerapatan yang sangat bervariasi, pengaruh perubahan tekanan dan suhu terhadap nilai ρ umumnya relatif kecil (Munson dkk., 2018). Karena kerapatan cairan dipengaruhi oleh suhu dan tekanan, kondisi suhu pada zat kondisi cairan dan air acuan perlu dinyatakan dengan jelas agar perhitungan gravitasi jenis menjadi akurat (Olson dan Wright, 1993).

Kadar etanol dalam sampel dapat ditentukan melalui pengukuran gravitasi jenisnya. Namun sebelum dianalisis, sampel harus berada dalam kondisi bebas dari senyawa lain, baik yang larut maupun tidak larut, kecuali air. Karena itu, sampel perlu didistilasi terlebih dahulu menggunakan distilasi sederhana untuk memisahkan etanol dari komponen lain (BIS, 1991)

Gravitasi jenis cairan dapat diukur dengan teknik piknometer, yang merupakan cara yang cukup akurat untuk mengetahui kadar etanol. Alat yang digunakan adalah piknometer, biasanya berkapasitas sekitar 50 ml. Nilai gravitasi jenis kemudian dihitung menggunakan persamaan tertentu (BIS, 1991)

$$\text{SG Sampel} = \frac{\text{Massa sampel pada piknometer dengan suhu } t^{\circ}\text{C}}{\text{massa air pada piknometer dengan suhu } t^{\circ}\text{C}}$$

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menerapkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan desain dan dilakukan dalam dua ulangan. Ada dua faktor 1 yang diuji, yaitu pemberian nutrisi NPK dengan empat dosis (0 g, 0,2 g, 0,4 g, dan 0,6 g) serta faktor 2 yang diuji, yaitu lama fermentasi dengan empat tingkat (2, 3, 4, dan 5 hari). Kombinasi kedua faktor ini menghasilkan total 16 perlakuan. Faktor perlakuan disajikan seperti berikut :

Tabel 3. 1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Isolat Khamir Dan Waktu Fermentasi

Pemberian NPK	Waktu fermentasi (hari)			
	2 (H1)	3 (H2)	4 (H3)	5 (H4)
0 (N0)	N0H1 (P1)	N0H2 (P5)	N0H3 (P9)	N0H4 (P13)
1 (N1)	N1H1 (P2)	N1H2 (P6)	N1H3 (P10)	N1H4 (P14)
3 (N2)	N2H1 (P3)	N2H2 (P7)	N2H3 (P11)	N2H4 (P15)
5 (N3)	N3H1 (P4)	N3H2 (P8)	N3H3 (P12)	N3H4 (P16)

Keterangan:

N : Pemberian NPK

W : Waktu fermentasi

P : Perlakuan

N0H2 : Konsentrasi NPK 0 gr, lama fermentasi 2 hari
N0H3 : Konsentrasi NPK 0 gr, lama fermentasi 3 hari
N0H4 : Konsentrasi NPK 0 gr, lama fermentasi 4 hari
N0H5 : Konsentrasi NPK 0 gr, lama fermentasi 5 hari
N2H2 : Konsentrasi NPK 0.2 gr, lama fermentasi 2 hari
N2H3 : Konsentrasi NPK 0.2 gr, lama fermentasi 3 hari
N2H4 : Konsentrasi NPK 0.2 gr, lama fermentasi 4 hari
N2H5 : Konsentrasi NPK 0.2 gr, lama fermentasi 5 hari
N4H2 : Konsentrasi NPK 0.4 gr, lama fermentasi 2 hari
N4H3 : Konsentrasi NPK 0.4 gr, lama fermentasi 3 hari
N4H4 : Konsentrasi NPK 0.4 gr, lama fermentasi 4 hari
N4H5 : Konsentrasi NPK 0.4 gr, lama fermentasi 5 hari
N6H2 : Konsentrasi NPK 0.6 gr, lama fermentasi 2 hari
N6H3 : Konsentrasi NPK 0.6 gr, lama fermentasi 3 hari
N6H4 : Konsentrasi NPK 0.6 gr, lama fermentasi 4 hari
N6H5 : Konsentrasi NPK 0.6 gr, lama fermentasi 5 hari

3.2 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini, menggunakan variabel independen dan variabel dependen.

3.3 Variabel Bebas

Variabel bebas terdiri dari dua perlakuan, yakni dosis nutrisi NPK dengan empat tingkat (0 g, 0,2 g, 0,4 g, dan 0,6 g) serta lama fermentasi yang terdiri dari empat durasi (2, 3, 4, dan 5 hari).

3.4 Variabel Terikat

Variabel terikat yang diukur adalah kadar bioetanol dan pH fermentasi yang dihasilkan dari proses fermentasi nira siwalan.

3.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan bulan Agustus 2024. Proses fermentasi dan pengukuran kadar bioetanol dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Pangan, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana

Malik Ibrahim Malang. Sementara tahap distilasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik pada jurusan dan fakultas yang sama.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Peralatan yang digunakan mencakup autoklaf, kompor, panci, alat distilasi, botol kaca 300 ml, kotak styrofoam, neraca analitik, spatula, solder, erlenmeyer 250 ml, pipet tetes, hot plate, stirrer, erlenmeyer 100 ml, gelas ukur 100 ml, gelas beker 500 ml, corong, pH meter digital, termometer ruangan, serta piknometer.

3.6.2 Bahan

Bahan yang dipakai meliputi nira siwalan, aquades, pupuk NPK, ragi instan merek “saf-instant”, larutan buffer pH 10 dan pH 4, karet gelang, plastisin, kantong plastik, serta es batu.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Sterilisasi

Botol selai berkapasitas 300ml dimasukkan ke dalam kantong plastik sebelum dilakukan sterilisasi. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.7.2 Pengambilan Nira Siwalan

Nira siwalan diperoleh dari petani penyadap di Desa Tegalbang, Kecamatan Palang, Kabupaten Tuban. Nira kemudian dimasukkan ke dalam botol air mineral berukuran 1500 ml (Lampiran 6) dan disimpan dalam kotak styrofoam berisi es, dengan tambahan bongkahan es di atas botol. Sampel yang telah dikemas kemudian dibawa ke laboratorium untuk keperluan penelitian.

3.7.3 Pemberian Perlakuan Nutrisi NPK dan Waktu Fermentasi

Nira siwalan dipasteurisasi pada suhu 62°C selama 30 menit (Pelczar dan Chan, 2013) lalu didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Sebanyak 200 ml nira dimasukkan ke dalam botol selai 300 ml, kemudian pH dikalibrasi menjadi pH netral yaitu 5. Selanjutnya, ditambahkan 4 g ragi roti dan dosis nutrisi NPK sesuai perlakuan (0 g, 0,2 g, 0,4 g, dan 0,6 g). Botol ditutup rapat dan disusun sesuai rancangan percobaan. Fermentasi dilakukan dengan variasi durasi 2, 3, 4, dan 5 hari dan diinkubasi di suhu 25°C.

3.7.4 Pengukuran pH Fermentasi

Proses pengukuran tingkat keasaman (pH) pada substrat fermentasi limbah nira siwalan dilakukan dengan menggunakan alat pH meter digital. Sebelum digunakan, alat tersebut dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan penyangga (buffer) untuk memastikan akurasi pada titik netral (pH 7). Teknis pengujian dilakukan dengan mencelupkan sensor alat ke dalam botol kaca berisi substrat, lalu didiamkan hingga angka pada layar menunjukkan nilai yang stabil. Prosedur ini diterapkan pada seluruh sampel, dengan ketentuan bahwa setiap kali akan berpindah ke sampel berikutnya, elektroda pH meter harus dibersihkan terlebih dahulu menggunakan akuades.

3.7.5 Destilasi Hasil Fermentasi

Sebanyak 100 ml nira hasil fermentasi dipipet dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat, lalu dipasang pada alat distilasi (Muzid, 2018). Proses distilasi dilakukan pada suhu 100°C hingga diperoleh 30 ml distilat (Lampiran 9). Distilat ditampung dalam botol plastik dan disimpan untuk analisis lebih lanjut.

3.7.6 Analisis Kadar Bioethanol

Kadar etanol pada sampel nira siwalan hasil distilasi dianalisis menggunakan piknometer. Sebelum digunakan, piknometer dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah itu, piknometer ditimbang dengan neraca analitik. Distilat dimasukkan ke dalam piknometer yang telah ditimbang sebelumnya hingga penuh, lalu kelebihan distilat pada ujung pipa kapiler dibersihkan. Piknometer yang berisi distilat kemudian ditimbang dan massanya dicatat. Prosedur yang sama dilakukan untuk aquades sebagai pembanding (Jhonprimen dkk., 2012). Selanjutnya, suhu ruangan saat penimbangan dicatat. Nilai gravitasi jenis (specific gravity/SG) etanol kemudian dihitung menggunakan rumus berikut (Azizah dkk., 2012).

$$SG \text{ Sampel} = x = \frac{(\text{berat piknometer berisi desilat}) - \text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat piknometer berisi aquades}) - \text{berat piknometer kosong}}$$

Hasil pengukuran gravitasi jenis sampel kemudian dikonversi menggunakan tabel gravitasi jenis yang diterbitkan oleh International Organization of Legal Metrology (IOML) (BIS, 1991)

3.7.7 Analisis Data Menggunakan SPSS

Data penelitian diinput ke program SPSS 16.0 dan dianalisis menggunakan uji normalitas serta uji homogenitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen pada tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$, analisis dilanjutkan dengan uji *two-way ANOVA* (*Analysis of Variance*) untuk menilai pengaruh pemberian nutrisi NPK dan lama fermentasi terhadap kadar bioetanol nira siwalan. Apabila ditemukan pengaruh yang signifikan, uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat 5 persen dilakukan untuk menentukan kombinasi dosis NPK dan lama fermentasi yang menghasilkan kadar bioetanol tertinggi.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh Interaksi Konsentrasi NPK dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioethanol Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Hasil penelitian memperlihatkan interaksi antara pemberian NPK dan lama fermentasi berpengaruh signifikan terhadap kadar bioetanol nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.), yang dibuktikan melalui analisis statistik dengan uji *Analysis of Variance* (ANOVA).

Terdapat interaksi yang signifikan antara pemberian NPK dan lama fermentasi terhadap kadar bioetanol dengan nilai signifikansi 0,000 ($<0,05$) (Lampiran 3). Temuan ini mengindikasikan bahwa pengaruh pemberian NPK terhadap kadar bioetanol bergantung pada lama fermentasi.

Hasil interaksi antara dosis NPK dan lama fermentasi terhadap kadar bioetanol nira siwalan disajikan pada Tabel 4.1.

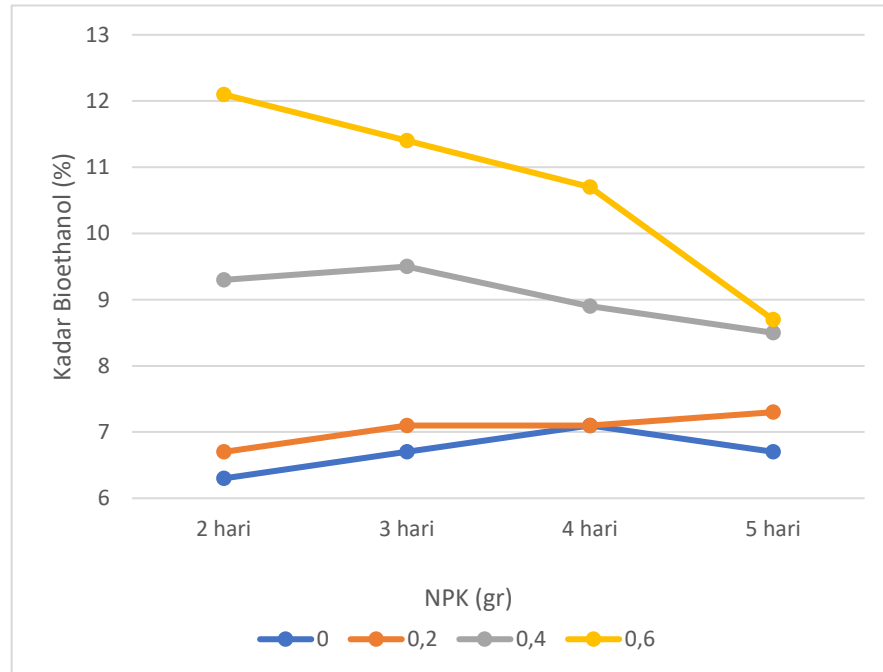
Tabel 4. 1 Pengaruh interaksi konsentrasi NPK dan lama waktu fermentasi terhadap kadar bioethnaol nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Pemberian NPK (gr)	Kadar Bioetanol			
	Waktu Fermentasi			
	2 hari	3 hari	4 hari	5 hari
0 gr	6.3 % a	6.7 % ab	7.1 % ab	6.7 % a
0.2 gr	6.7 % ab	7.1 % ab	7.1 % ab	7.3 % ab
0.4 gr	9.3 % c	9.5 % c	8.9 % bc	8.5 % bc
0.6 gr	12.1 % d	11.4 % cd	10.7 % cd	8.7 % bc

Keterangan: notasi huruf yang sama menunjukkan sama nyata kadar etanol yang dihasilkan.

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rata-rata kadar bioetanol tertinggi diperoleh dari interaksi antara pemberian NPK 0,6 g dan lama fermentasi 2 hari, yaitu sebesar 12,1%. Perlakuan ini memiliki notasi yang berbeda dengan perlakuan lainnya, sehingga dapat diketahui bahwa kadar bioetanol yang dihasilkan berbeda nyata. Sebaliknya, kadar bioetanol terendah rata-rata diperoleh pada kombinasi pemberian NPK 0 g dengan lama fermentasi 2 hari, yaitu 6,3%. Perlakuan ini juga dicatat dengan notasi berbeda dibandingkan perlakuan lain, yang menandakan adanya

perbedaan signifikan. Secara umum, peningkatan dosis NPK hingga 0,6 g pada hari ke-2 mampu meningkatkan kadar bioetanol secara signifikan, sedangkan pemberian NPK rendah (0 g) menghasilkan kadar bioetanol paling rendah



Gambar 4. 1 Grafik Interaksi Konsentrasi NPK dan Lama Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioethanol Nira Siwalan

Gambar 4.1 tentang interaksi antara pemberian NPK dan lama fermentasi menunjukkan bahwa peningkatan dosis NPK cenderung menghasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi, meskipun lama fermentasi juga memengaruhi puncak produksinya. Pada perlakuan tanpa NPK (0 g), kadar bioetanol tertinggi hanya mencapai 7,1% dan dicapai pada hari ke-4 fermentasi. Pada pemberian NPK 0,2 g, kadar bioetanol tertinggi sebesar 7,3% dicapai di hari ke-5 fermentasi. Peningkatan yang lebih jelas terlihat pada pemberian NPK 0,4 g, dimana kadar bioetanol tertinggi mencapai 9,5% pada hari ke-3 fermentasi. Sedangkan pada dosis tertinggi, yaitu NPK 0,6 g, kadar bioetanol meningkat signifikan hingga 12,1% yang sudah dicapai lebih cepat, yakni pada hari ke-2 fermentasi.

Pada hari ke-2 fermentasi yang menandai fase log, produksi bioetanol mencapai puncaknya hingga 12% pada dosis NPK 0,6 gr karena ketersediaan nitrogen yang melimpah memicu respons transkripsional pada gen-gen penyusun enzim glikolisis (Barbosa dkk., 2012). Percepatan perombakan glukosa menjadi

etanol ini didukung secara sinergis oleh ketersediaan fosfat yang mempercepat fosforilasi gula serta meningkatkan regenerasi senyawa berenergi tinggi atau ATP (Persson dkk., 2003). Selain itu, keberadaan ion kalium dalam pupuk NPK berperan krusial sebagai kofaktor aktivator enzim piruvat kinase yang mengoptimalkan fluks karbon menuju pembentukan etanol (Walker, 2004). Tingginya aktivitas metabolisme pada fase ini tidak hanya memaksimalkan kadar alkohol, tetapi juga menyebabkan asidifikasi media secara awal karena sel secara aktif membuang proton H^+ ke lingkungan ekstraseluler untuk menjaga homeostasis pH intraseluler agar tetap stabil selama pertumbuhan cepat berlangsung (Petrezselyová dkk., 2010).

Pada pengamatan hari ke-3 dan ke-4, fermentasi memasuki fase stasioner di mana grafik menunjukkan kadar bioetanol mulai mengalami pelandaian atau penurunan, terutama pada dosis NPK tinggi, yang berkorelasi dengan penurunan pH. Penurunan kadar etanol ini terjadi karena sel khamir mulai mengalihkan energinya dari produksi metabolit primer menjadi mekanisme pertahanan seluler untuk menghadapi stres lingkungan akibat akumulasi asam organik dan toksisitas etanol (Wu dkk., 2011; Barbosa dkk., 2012). Meskipun ketersediaan nitrogen dan fosfor pada awal fase tetap mendukung metabolisme, konsentrasi proton (H^+) yang semakin tinggi di lingkungan ekstraseluler memaksa sel untuk meningkatkan konsumsi ATP guna menggerakkan pompa H^+ -ATPase agar pH internal tetap netral (Persson dkk., 2003; Ramos dkk., 2011). Selain itu, ion kalium berperan vital dalam menjaga stabilitas muatan membran selama periode stres ini, namun asidifikasi media yang terus berlanjut hingga di bawah pH 3,5 mulai menghambat efisiensi jalur glikolisis dan stabilitas enzimatis (Walker, 2004; Petrezselyová dkk., 2010). Akibatnya, laju konversi gula menjadi etanol melambat, dan penurunan kadar etanol yang terlihat pada grafik kemungkinan disebabkan oleh oksidasi atau penguapan seiring dengan menurunnya viabilitas sel pada fase ini (Mendes-Ferreira dkk., 2007).

Pada hari ke-5, proses fermentasi memasuki fase kematian (*death phase*) yang ditandai dengan penurunan kadar bioetanol pada seluruh perlakuan, terutama terlihat jelas pada dosis NPK 0,6 gr yang turun. Penurunan ini terjadi karena viabilitas sel *Saccharomyces cerevisiae* menurun drastis akibat kelelahan nutrisi dan akumulasi metabolit toksik yang merusak fungsi metabolisme seluler (Gibson

dkk., 2007). Meskipun pemberian NPK pada awalnya memacu produksi, konsentrasi etanol yang tinggi dalam waktu lama menyebabkan stres etanol yang merusak struktur lipid membran sel, sehingga memicu lisis atau kematian sel (Ding dkk., 2009). Ketersediaan fosfor dan nitrogen yang telah habis pada hari kelima menyebabkan sel tidak mampu melakukan perbaikan protein dan regenerasi ATP, yang mengakibatkan berhentinya jalur glikolisis secara total (Walker & Stewart, 2016). Selain itu, penurunan kadar etanol yang terdeteksi pada grafik kemungkinan besar disebabkan oleh fenomena penguapan (evaporation loss) atau terjadinya metabolisme balik di mana sisa-sisa sel yang masih bertahan mengonsumsi etanol sebagai sumber karbon alternatif ketika kadar gula sudah habis (Vilela-Moura dkk., 2011).

Pemberian NPK sebagai sumber nutrisi nitrogen fosfor kalium yang mempengaruhi fermentasi etanol. Hal ini dikarenakan aktivitas metabolisme ragi dan mendorong sintesis enzim yang mempercepat konversi gula menjadi etanol, sehingga penggunaan NPK dikombinasikan dengan lama fermentasi yang optimal secara signifikan dapat meningkatkan kadar bioetanol (Febrianti dkk., 2025). Selain itu, penelitian oleh Rojo dkk. (2023) menunjukkan bahwa variasi sumber nitrogen berdampak terhadap performa fermentasi dan efisiensi produksi etanol, termasuk pengaruh lamanya fermentasi terhadap pemanfaatan substrat oleh sel ragi. Dengan demikian, kombinasi pemberian NPK dan durasi fermentasi merupakan faktor kritis yang mempengaruhi kadar bioetanol dalam sistem fermentasi nira siwalan.

Setelah terjadi kondisi puncak, selanjutnya terdapat penurunan kadar etanol. Pada perlakuan dengan penambahan NPK 0,6 g, kadar etanol mencapai nilai tertinggi pada fermentasi hari ke-2 (12,1%), selanjutnya, kadar bioetanol menurun pada hari ke-3 menjadi 11,4% dan terus menurun hingga mencapai 8,7% di hari ke-5. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis NPK tertinggi, penurunan kadar etanol terjadi lebih cepat setelah mencapai kondisi puncak. Pada perlakuan dengan NPK 0,4 g, kadar etanol juga menurun setelah hari ke-3, dari 9,5% menjadi 8,9% pada hari ke-4 dan 8,5% pada hari ke-5. Pola yang sama terlihat pada pemberian NPK 0,2 g, meskipun perubahan relatif lebih kecil, yakni kadar etanol cenderung stabil dari hari ke-3 (7,1%) sampai hari ke-5 (7,3%). Sementara itu, pada perlakuan tanpa NPK (0 g), kadar etanol mengalami peningkatan hingga hari ke-4

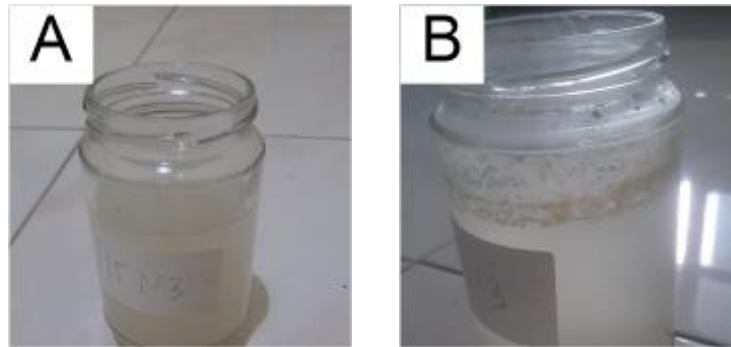
(7,1%), kemudian mengalami sedikit penurunan pada hari ke-5 (6,7%). Dengan demikian, jika dosis NPK yang diberikan semakin tinggi, maka puncak etanol tercapai semakin cepat, dan semakin cepat pula terjadi penurunan setelah titik puncak fermentasi.

Penurunan produksi etanol selama fase *death* dapat dijelaskan melalui kerusakan membran sel, kebocoran materi intraseluler, dan peningkatan stres oksidatif akibat akumulasi etanol yang bersifat toksik bagi sel (Aiello dkk., 2024). Aiello dkk. (2024) mengungkapkan bahwa paparan etanol dalam konsentrasi tinggi menyebabkan perubahan fluiditas membran dan kerusakan struktur sel, sehingga sel kehilangan kemampuan mempertahankan homeostasis internal dan akhirnya mati atau menjadi non-viabel.

Selama fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan etanol sebagai produk utama metabolisme, namun senyawa ini sekaligus bertindak sebagai zat toksik bagi sel ragi itu sendiri. Akumulasi etanol dalam medium dapat merusak struktur membran sel, meningkatkan permeabilitas, dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, sehingga mengganggu fungsi enzim dan transpor nutrisi. Kondisi ini memicu mekanisme umpan balik negatif, di mana semakin tinggi konsentrasi etanol yang terbentuk, semakin besar pula hambatan terhadap pertumbuhan dan aktivitas metabolisme ragi. Akibatnya, laju fermentasi menurun meskipun substrat gula masih tersedia, karena energi sel dialihkan untuk mempertahankan integritas membran dan keseimbangan ion (Yang dkk., 2022). Dengan demikian, etanol berperan ganda sebagai produk metabolik sekaligus inhibitor pertumbuhan, yang menjelaskan mengapa produksi bioetanol sering mencapai titik maksimum sebelum kemudian stagnan atau menurun pada fermentasi yang berlangsung terlalu lama.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi produksi etanol dalam proses fermentasi, selain nutrisi dan waktu fermentasi. Salah satunya adalah suhu dalam substrat yang menunjang kehidupan mikroorganisme dalam media. Suhu fermentasi yang tidak optimal membatasi pertumbuhan sel dan menjadi faktor stres bagi sel. Suhu yang optimal mendukung aktivitas enzim dan metabolisme sel secara maksimal, sedangkan suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah dapat menekan pertumbuhan sel, menurunkan viabilitas mikroba, dan menghambat

proses fermentasi (Topaloğlu dkk., 2023). Dengan demikian, penelitian lanjutan yang mempertimbangkan variasi suhu perlu dilakukan untuk mengkaji pengaruhnya terhadap produksi etanol, sehingga dapat diperoleh kadar etanol optimum pada proses fermentasi nira siwalan.



Gambar 4. 2 (A) nira siwalan sebelum fermentasi (B) nira siwalan setelah fermentasi
(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2025)

Nira siwalan pada gambar 4.2 sebelum fermentasi umumnya berwarna jernih atau kekuningan muda dengan aroma manis alami sebagai refleksi kandungan gula dan ketiadaan aktivitas fermentatif. Namun, selama fermentasi terjadi perubahan kimia dan fisik yang signifikan, nira menjadi lebih keruh atau keruh putih/kabur karena pertumbuhan biomassa ragi dan partikel hasil metabolisme, serta muncul aroma fermentasi atau alkoholik akibat akumulasi senyawa volatil seperti alkohol, asam organik, dan ester. Selain itu, penelitian terhadap fermentasi nira menunjukkan bahwa jumlah gula menurun drastis, pH turun, asam organik meningkat, dan etanol mulai terbentuk, kondisi ini mengubah profil sensori sap secara menyeluruh, dari manis alami menjadi aroma asam/fermentatif dan warna berubah gelap/keruh (Hebbar dkk., 2018). Oleh karena itu, perubahan warna dan aroma sebelum dan setelah fermentasi dapat dianggap sebagai indikator bahwa fermentasi berjalan aktif dan konversi kimia berhasil.

4.2. Pengaruh Interaksi Konsentrasi NPK dan Waktu Fermentasi Terhadap pH Fermentasi Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Hasil pengukuran pH substrat fermentasi nira siwalan disajikan pada Lampiran 2. Penelitian menunjukkan bahwa pH menurun seiring berlangsungnya proses

fermentasi. Analisis ANOVA menunjukkan tidak ada interaksi signifikan antara pemberian NPK dan lama fermentasi terhadap derajat keasaman (pH), dengan nilai signifikansi 0,639 ($>0,05$), sehingga tidak dilakukan uji lanjut dan data disajikan secara deskriptif.

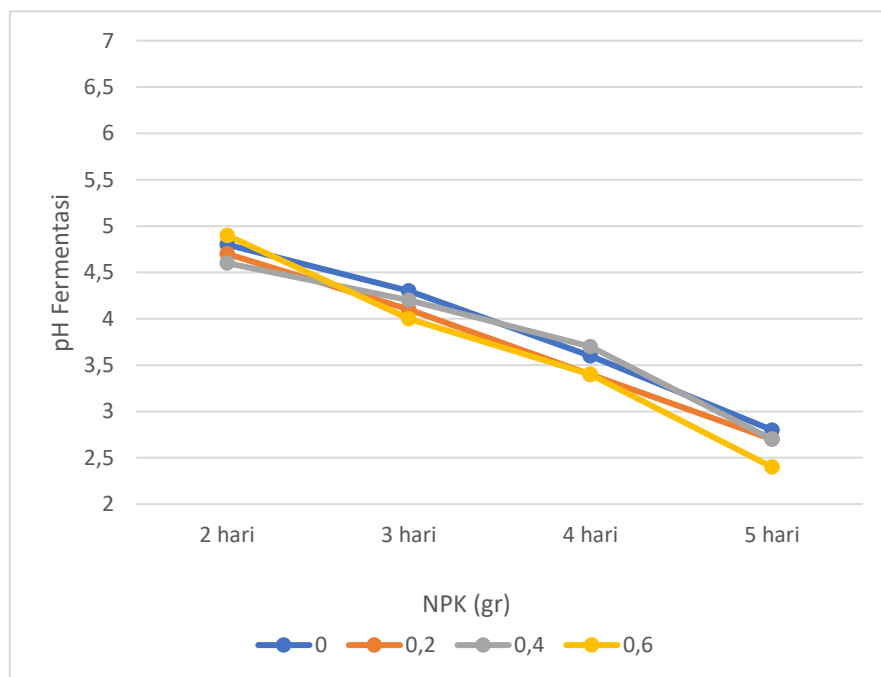
Tabel 4.2 menunjukkan rata-rata nilai pH tertinggi diperoleh pada interaksi antara pemberian NPK 0 g dan lama fermentasi 2 hari, yaitu sebesar 4,8. Nilai pH ini cenderung menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. pH terendah diperoleh pada interaksi antara pemberian NPK 0 g dan lama fermentasi 5 hari dengan pH di angka 2,8. Pola serupa juga terlihat pada perlakuan dengan pemberian NPK 0,2 g, 0,4 g, dan 0,6 g, dimana pH mengalami penurunan dari hari ke-2 hingga hari ke-5 fermentasi. Penurunan ini membuktikan bahwa semakin lama proses fermentasi berlangsung, kondisi medium menjadi lebih asam akibat aktivitas mikroba yang memproduksi asam organik selama metabolisme gula.

Tabel 4. 2 Rata-rata nilai pH substrat fermentasi yang dipengaruhi konsentrasi NPK dan waktu fermentasi

Pemberian NPK (gr)	Derajat Keasaman (pH)			
	Waktu Fermentasi			
	2 hari	3 hari	4 hari	5 hari
0 gr	$4.8 \pm 0,282$	$4,3 \pm 0141$	$3,6 \pm 0,141$	$2,8 \pm 0,141$
0.2 gr	$4,7 \pm 0,141$	$4,1 \pm 0,41$	$3,4 \pm 0,141$	$2,7 \pm 0,282$
0.4 gr	$4,6 \pm 0,282$	$4,2 \pm 0,424$	$3,7 \pm 0,141$	$2,7 \pm 0,424$
0.6 gr	$4,9 \pm 0,141$	$4 \pm 0,141$	$3,4 \pm 0,424$	$2,4 \pm 0,282$

Analisis data pH fermentasi bioethanol nira siwalan menunjukkan bahwa interaksi antara pemberian NPK dan lama waktu fermentasi tidak memberikan perbedaan yang signifikan secara statistic terhadap pH fermentasi, meskipun terlihat kecenderungan penurunan pH seiring waktu fermentasi. Penurunan pH selama fermentasi dapat dikaitkan dengan degradasi gula dan pemanfaatan suplemen amonium oleh strain ragi untuk menghasilkan asam organik. Degradasi gula terjadi melalui jalur glikolisis yang menghasilkan asam suksinat dan asam asetat sebagai produk samping, sedangkan asimilasi amonium melepaskan ion H^+ ke dalam medium, yang menyebabkan penurunan pH selama fermentasi (Akpogheliie dkk., 2024).

Santos (2015) berpendapat bahwa faktor waktu lebih dominan dalam mempengaruhi penurunan pH, karena semakin lama fermentasi berlangsung, akumulasi produk samping asam seperti asam suksinat dan asam asetat semakin meningkat. Media fermentasi yang memiliki sumber nitrogen ammonium akan lebih cepat mengasam daripada media dengan nitrogen organik, tetapi perubahan pH yang dihasilkan dari variasi kecil dosis nutrient seringkali tidak mencapai nilai yang signifikan.



Gambar 4. 3 Grafik Interaksi konsentrasi NPK dan Lama Waktu Fermentasi Terhadap pH Fermentasi Nira Siwalan

Gambar 4.3 menunjukkan pola penurunan pH selama fermentasi menggambarkan aktivitas biologis khas fermentasi alkoholik dimana proses degradasi gula dan asimilasi nitrogen berjalan simultan menghasilkan asam organik dan ion hydrogen bebas. Menurut Rojo dkk., (2023) asam organik utama yang berkontribusi menurunkan pH meliputi asam suksinat, asam asetat, asam laktat dan asam piruvat yang terbentuk melalui jalur glikolisis dan siklus asam sitrat yang masih aktif sebagian. Selain itu komposisi substrat nira siwalan yang kaya akan sukrosa dan fruktosa dapat mempercepat penurunan pH karena substrat tersebut mudah terdegradasi oleh enzim invertase dan menghasilkan asam yang

lebih cepat dibanding glukosa (Roca-mesa dkk., 2020). Christofi dkk., (2022) menjelaskan meskipun variasi nutrisi nitrogen dapat memodifikasi metabolisme, lama fermentasi tetap menjadi faktor dominan dalam menentukan keasaman akhir. Oleh karena itu, pada penelitian ini, walaupun penambahan NPK berperan sebagai sumber nitrogen tambahan, perubahan pH yang signifikan disebabkan oleh peningkatan asam organik dan waktu fermentasi yang lebih lama.

Pada hari ke-2 fermentasi yang menandai dimulainya fase log, sel *Saccharomyces cerevisiae* mulai menunjukkan penurunan pH yang nyata akibat percepatan fluks glikolisis yang didorong oleh ketersediaan nitrogen sebagai komponen penyusun protein enzim (Mendes-Ferreira ., 2007). Penurunan pH ini berkaitan erat dengan penyerapan amonium dari sumber nitrogen yang memicu sel untuk melepaskan proton H^+ ke media ekstraseluler guna menjaga keseimbangan muatan. Selain itu, ketersediaan fosfor mendukung proses fosforilasi gula dan regenerasi ATP sebagai sumber energi (Wu dkk., 2011), sementara kalium bertindak sebagai kofaktor aktivator bagi enzim piruvat kinase untuk mengoptimalkan metabolisme karbon (Walker, 2004).

Pada hari ke-3 dan ke-4 yang menandai transisi menuju fase stasioner, aktivitas fermentasi mencapai titik puncaknya sehingga menyebabkan penurunan pH sebagaimana terlihat pada grafik. Meskipun laju pertumbuhan jumlah sel mulai melambat, akumulasi metabolit berupa asam-asam organik seperti asam suksinat dan asam asetat mencapai konsentrasi tertinggi pada periode ini. Peran nitrogen yang telah terinkorporasi menjadi enzim glikolisis serta dukungan energi dari fosfor memungkinkan sel tetap aktif melakukan metabolisme produksi etanol secara intensif (Mendes-Ferreira ., 2007; Wu ., 2011). Untuk menghadapi stres lingkungan akibat meningkatnya kadar etanol dan akumulasi asam, sel khamir secara aktif menggunakan kalium sebagai kofaktor untuk menggerakkan pompa proton H^+ -ATPase guna membuang ion hidrogen ke media ekstraseluler (Walker, 2004; Petrezselyová ., 2010).

Pada hari ke-5, proses fermentasi memasuki fase kematian (*death phase*) di mana nilai pH mencapai titik terendah pada grafik akibat akumulasi maksimal metabolit asam organik yang bersifat toksik bagi sel. Penurunan pH yang ekstrem ini merupakan konsekuensi dari metabolisme intensif pada fase sebelumnya, di

mana pasokan nitrogen dan fosfor yang tinggi telah memacu laju glikolisis secara maksimal hingga melampaui batas toleransi lingkungan khamir (Mendes-Ferreira dkk., 2007; Wu dkk., 2011). Tingginya konsentrasi proton H^+ di luar sel—yang semula dikeluarkan melalui pompa membran dengan bantuan kalium sebagai aktivator enzimatis untuk menjaga homeostasis internal—kini berbalik menjadi faktor penghambat yang merusak integritas membran dan menyebabkan kematian sel (Walker, 2004). Kondisi lingkungan yang sangat asam ini, dikombinasikan dengan habisnya nutrisi esensial dalam media, menghentikan seluruh aktivitas biologis sel khamir sehingga grafik keasaman menunjukkan titik paling rendah sebelum proses fermentasi benar-benar berhenti (Mendes-Ferreira dkk., 2007).

Nitrogen merupakan komponen esensial dalam biosintesis protein yang membentuk seluruh enzim pada jalur metabolisme glikolisis dalam sel *Saccharomyces cerevisiae* (Mendes-Ferreira dkk., 2007). Unsur fosfor berperan vital dalam proses fosforilasi glukosa pada tahap awal glikolisis serta regenerasi ATP sebagai sumber energi seluler utama. Sementara itu, kalium bertindak sebagai kofaktor spesifik bagi enzim piruvat kinase yang mengatur fluks karbon pada tahap akhir glikolisis (Walker, 2004). Peningkatan aktivitas enzimatis yang didorong oleh kecukupan nutrisi ini memicu akumulasi produk sampingan berupa asam organik dan mengaktifkan mekanisme transportasi proton melalui pompa H^+ ATPase pada membran plasma (Petreselyová dkk., 2010). Sekresi ion hidrogen H^+ ke lingkungan ekstraseluler sebagai upaya menjaga homeostasis pH internal sel inilah yang pada akhirnya mengakibatkan penurunan pH media secara signifikan selama proses fermentasi bioetanol berlangsung.

Penurunan atau perubahan pH yang terlalu jauh dari kondisi optimum dapat menyebabkan stres fisiologis pada ragi, sehingga menghambat aktivitas enzim fermentatif dan menurunkan efisiensi konversi gula menjadi etanol. Pada kondisi pH yang terlalu rendah, gradien proton meningkat di dalam sel sehingga energi mikroba lebih banyak digunakan untuk mempertahankan keseimbangan pH intrasel dibandingkan untuk produksi etanol. Akibatnya, laju fermentasi menurun dan kadar bioetanol yang dihasilkan menjadi lebih rendah (Wu dkk., 2017).

4.3 Pemanfaatan Nira Siwalan sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioethanol dalam Perspektif Al-Qur'an

Hasil penelitian mengindikasikan bahwa nira siwalan memiliki dua sisi potensi, yakni manfaat maupun kerugian, tergantung pada cara pemanfaatannya. Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam Q.S. Asy-Syu'ara [26]: 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : “Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik?”

Menurut Al-Maraghi (1993) dalam tafsir *Al-Maraghi* menggambarkan seluruh tumbuhan memiliki nilai guna bagi manusia, baik sebagai sumber pangan maupun energi. Ayat ini menyeru manusia untuk merenungkan nikmat Allah yang berupa keragaman hayati bumi yang masing-masing memiliki potensi untuk dimanfaatkan secara bijak. Sebagaimana nira siwalan yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan konsumsi, namun nira siwalan juga dapat disalahgunakan apabila telah terfermentasi karena berubah menjadi khamr yang dapat memabukkan.

Pemanfaatan nira siwalan sebagai bahan baku bioetanol merupakan seruan untuk mengoptimalkan potensi tanaman yang Allah sediakan, sehingga sumber daya alam dapat dimanfaatkan secara bermanfaat dan bebas dari mudharat, baik bagi lingkungan maupun bagi kehidupan manusia. Allah SWT berfirman dalam QS. Al-Baqarah [2]: 205 yang berbunyi :

وَإِذَا تَوَلَّى سَعَى فِي الْأَرْضِ لِيُفْسِدَ فِيهَا وَيُهْلِكَ الْحَرْثَ وَالنَّسْلَ وَاللَّهُ لَا يُحِبُّ الْفُسَادَ

Artinya : “Apabila berpaling (dari engkau atau berkuasa), dia berusaha untuk berbuat kerusakan di bumi serta merusak tanam-tanaman dan ternak. Allah tidak menyukai kerusakan..”

Penafsir modern sering mengaitkan ayat ini dengan isu *sustainability* (keberlanjutan). "Merusak tanaman dan keturunan" ditafsirkan sebagai segala tindakan yang memutus rantai makanan atau merusak keanekaragaman hayati. Bioetanol dari nira siwalan dianggap sebagai solusi "anti-fasad" karena pohon siwalan mampu hidup di lahan kritis dan justru membantu mencegah degradasi lahan. Dengan memanfaatkan nira tanpa menebang pohon, manusia menjalankan amanah ayat ini untuk tidak memutus mata rantai manfaat ekonomi bagi generasi sekarang dan hak ekologis bagi generasi mendatang.

Pengolahan nira siwalan dengan baik, diharapkan dapat tercipta alternatif energi yang ramah lingkungan. Selain itu, pemanfaatan sumberdaya alam secara bijak seperti ini juga menjadi Langkah strategis dalam menjaga kelestarian lingkungan dan mencegah dari eksploitasi yang berlebihan. Eksploitasi yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan ekosistem, mempercepat kelangkaan bahan bakar fosil yang berdampak pada kehidupan manusia serta makhluk lain

Allah SWT melarang melakukan kerusakan di muka bumi, sebagaimana dijelaskan dalam surah Al-A'raf [7]: 56 yang berbunyi:

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

Artinya : “Janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah diatur dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat dengan orang-orang yang berbuat baik.”

Menurut tafsir Al-Mishbah oleh Shihab (2002) menjelaskan bahwa ayat diatas menegaskan keseimbangan antara etika spiritual dan tanggung jawab ekologis. Manusia diperintahkan memohon kepada Allah SWT dengan takut dan berharap agar segala aktivitasnya tetap berada dalam keberkahan, bukan kerusakan. Tindakan yang merusak alam seperti mengeksploitasi berlebihan, pencemaran lingkungan atau penyalahgunaan sumberdaya termasuk bentuk pengingkaran terhadap nikmat Allah. Maka, setiap Upaya ilmiah seperti pengembangan bioethanol dari nira siwalan dapat dimaknai sebagai bentuk kebaikan (*Ikhsan*) jika dilakukan dengan niat menjaga keseimbangan dan kemaslahatan manusia.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dapat disimpulkan bahwa:

1. Kombinasi konsentrasi nutrisi NPK dan waktu fermentasi memengaruhi kadar bioetanol nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.). Kombinasi NPK 0,6 gram dengan fermentasi selama 2 hari menghasilkan kadar bioetanol tertinggi, yaitu 12,1%.
2. Kombinasi pemberian NPK dan lama fermentasi tidak berpengaruh pada pH fermentasi bioetanol nira siwalan. Nilai pH terendah, yakni 4,9, diperoleh pada kombinasi NPK 0,6 gram dengan fermentasi 2 hari.

5.2 Saran

1. Selanjutnya disarankan untuk menambahkan dosis nutrisi NPK di atas 0,6 gram dan/atau memperpendek lama fermentasi menjadi kurang dari 2 hari untuk mengevaluasi potensi peningkatan kadar bioetanol.
2. Studi tambahan diperlukan untuk menganalisis kadar asam asetat setelah fermentasi, agar dapat memahami perubahan kimia yang terjadi dan hubungannya dengan bioetanol yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisetya, E., Krisdiarto, A. W., & Partha, I. B. B. (2022). Pengaruh Kondisi Penyadapan Terhadap Kualitas Nira Kelapa (*Cocos Nucifera*). *Prosiding Seminar Nasional Instiper*, 1(1), 271–278.
- Akpogheli, P. O., Edo, G. I., Kasar, K. A., Zainulabdeen, K., Yousif, E., Mohammed, A. A., Jikah, A. N., Ezekiel, G. O., Owheruo, J. O., Ugbune, U., Umar, H., Ekokotu, H. A., Oghrora, E. E. A., Onyibe, P. N., Ekpekp, L. D., Isoje, E. F., & Agbo, J. J. (2024). Impact of different nitrogen sources, initial pH and varying inoculum size on the fermentation potential of *Saccharomyces cerevisiae* on wort obtained from sorghum substrate. *Food Materials*
- Andrio, D., Syafila, M., Handajani, M., & Natalia, D. (2015). Pengaruh Pengendalian Ph Terhadap Pembentukan Etanol Dan Pergeseran Produk Asidogenesis Dari Fermentasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit (The Influence Of Ph Control On Ethanol And Switch Of Acidogenic Products Formation From Palm Oil Mill Effluent). *Jurnal Manusia Dan Lingkungan*, 22(1), 1.
- Ansar, A., Dwi Putra, G. M., Abdullah, S. H., & Siahaya, M. S. (2019). Pengaruh Variasi Konsentrasi Starter dan NPK terhadap Kadar Etanol Hasil Fermentasi dan Destilasi Nira Aren. *Jurnal Teknotan*, 13(2), 35.
- Anugrah, R., Mardawati, E., Putri, S. H., & Yuliani, T. (2020). Characterization of Bioethanol from Empty Palm Fruit Bunch Using Adsorption Purification Method (Adsorption Using Adsorbent in the Form Of Zeolite). *Jurnal Industri Pertanian*, 2(1), 113–123.
- Awodi, P. S., Ogbonna, J. C., & Nwagu, T. N. (2022). Bioconversion of mango (*Mangifera indica*) seed kernel starch into bioethanol using various fermentation techniques. *Heliyon*, 8(6), e09707.
- Azmi, H., Octaviani, N. F., & Musa'adah, M. (2025). Inovasi Produksi Bioetanol Berbasis Lignoselulosa Limbah Kulit Kopi (*Coffea* Sp.) Dengan Konsep Biorefinery Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*. *Current Biochemistry*, 12(1), 21–40.
- Azni, M. A., Md Khalid, R., Hasran, U. A., & Kamarudin, S. K. (2023). Review of the Effects of Fossil Fuels and the Need for a Hydrogen Fuel Cell Policy in Malaysia. *Sustainability (Switzerland)*, 15(5).
- BIS. (1991). *IS 3506 (1989): Tables for Alcoholometry (Pyknometer Method) [PCD 9: Organic Chemicals Alcohols and Allied Products and Dye Intermediates]*. 60.
- Bušić, A., Mardetko, N., Kundas, S., Morzak, G., Belskaya, H., Šantek, M. I., Komes, D., Novak, S., & Šantek, B. (2018). Bioethanol production from renewable raw materials and its separation and purification: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 56(3), 289–311.

- Chang, Y.-H., Chang, K.-S., Chen, C.-Y., Hsu, C.-L., Chang, T.-C., & Jang, H.-D. (2018). Enhancement of the Efficiency of Bioethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* via Gradually Batch-Wise and Fed-Batch Increasing the Glucose Concentration. *Fermentation*, 4(2), 45.
- Christofi, S., Papanikolaou, S., Dimopoulou, M., Terpou, A., Cioroiu, I. B., Cotea, V., & Kallithraka, S. (2022). Effect of Yeast Assimilable Nitrogen Content on Fermentation Kinetics, Wine Chemical Composition and Sensory Character in the Production of Assyrtiko Wines. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(3).
- Da Silva, N. L. C. L., Salgueiro, A. A., Ledingham, W. M., Melo, E. H. M., & Filho, J. L. L. (1992). Effects of potassium on the ethanol production rate of *Saccharomyces cerevisiae* carrying the plasmid pCYG4 related with ammonia assimilation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 37(1), 1–10.
- Effendi, D. S., Yuniyati, N., & Luntungan, H. . (2014). Produksi tanaman nipah di sungai tello Sulawesi Selatan. *B. Palma*, 15(1), 82–85.
- Ghina Febrianti, Euis Nursaadah, Rendy Wikrama Wardana, Sutarno, & Henny Johan. (2025). Contextual Learning of Bioethanol: Effect of NPK and Urea Application on Production from Pineapple Waste. *Jurnal Inovasi Pembelajaran Kimia*, 7(1), 25–37.
- Gnanavelrajah, N., Theepika, S., Karthigesu, J., & Raveendran, S. (2025). Palmyrah (*Borassus flabellifer*) palm land-use system: A potential key tool for enhancing carbon stock and floristic diversity in a dry zone tropical landscape. *Trees, Forests and People*, 20(March), 100827.
- Gude, S., & Taga, M. E. (2020). Multi-faceted approaches to discovering and predicting microbial nutritional interactions. *Current Opinion in Biotechnology*, 62, 58–64.
- Hackmann, T. J. (2024). The vast landscape of carbohydrate fermentation in prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 48(4).
- Hai Abdul, K. Rambabu , Ayesha S. Al Dhaheri , Shyam S. Kurup , Fawzi Banat. (2024). *Tapping into palm sap: Insights into extraction practices, quality profiles, fermentation chemistry, and preservation techniques*. *Heliyon*, 10(15)
- Haisya, N. B. S., Utama, B. D., Edy, R. C., & Aprilia, H. M. (2011). The Potential of Developing Siwalan Palm Sugar (*Borassus flabellifer* Linn .) as One of the Bioethanol Sources to Overcome Energy Crisis Problem in Indonesia. *2nd International Conference on Environmental Engineering and Applications IPCBEE*, 17(1), 89–93.
- Hebbar, K. B., Pandiselvam, R., Manikantan, M. R., Arivalagan, M., Beegum, S., & Chowdappa, P. (2018). Palm Sap—Quality Profiles, Fermentation Chemistry, and Preservation Methods. *Sugar Tech*, 20(6), 621–634.
- Heux S, Cadiere A, Dequin S. (2008) Glucose utilization of strains lacking PGI1 and expressing a transhydrogenase suggests differences in the pentose phosphate capacity among *Saccharomyces cerevisiae* strains. *FEMS Yeast*

Res. 217-24.

- Komaryati, S, G. (2010). *Prospek Bioetanol Sebagai Pengganti Minyak Tanah Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan*. 5, 3–21.
- Kudo, M., Vagnoli, P., & Bisson, L. F. (1998). Imbalance of pH and potassium concentration as a cause of stuck fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(3), 295–301.
- Li, J., Yuan, M., Meng, N., Li, H., Sun, J., & Sun, B. (2024). Influence of nitrogen status on fermentation performances of non-Saccharomyces yeasts: a review. *Food Science and Human Wellness*, 13(2), 556–567.
- Mardiyah, S. 2018. Pengaruh Lama Pemanasan Terhadap Kadar Alkohol Pada Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*). Surabaya : The Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist. Vol: 1, No.1 (9-15).
- Mcguire, P. (2020). Chemical individuality in T cells: A Garrodian view of immunometabolism. *Immunological Reviews*, 295(1), 82–100
- Meisela, E., Restuhadi, F., & Rahmayuni. (2016). Hubungan antara kadar etanol, kadar gula reduksi dan jumlah sel dalam produksi bioetanol dari air kelapa kental dengan penambahan tween80. *Jom FAPERTA*, 3(2), 1–8.
- Mendes-Ferreira, A., Barbosa, C., Falco, V., Leão, C., & Mendes-Faia, A. (2007). The role of nitrogen on the glycolytic flux of *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73(5), 1131–1141.
- Mulyadi, A. (2012). Pengaruh pemberian Legin, Pupuk NPK (15:15:15) dan Urea pada Tanah Gambut Terhadap kandungan N,P total pucuk dan Bintil Akar Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.). *Kaunia*, 8(1), 21–29.
- Narendranath, N. V., & Power, R. (2005). Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2239–2243.
- Newes, E., Clark, C. M., Vimmerstedt, L., Peterson, S., Burkholder, D., Korotney, D., & Inman, D. (2022). Ethanol production in the United States: The roles of Policy, Price, And Demand. *Energy Policy*, 161(September 2021), 112713.
- Ngastiti, Shalfi Alfionita (2024) Optimasi Fermentasi Batang Sorgum Menjadi Bioetanol Dengan Metode Central Composite Design. Undergraduate Thesis, Universitas Internasional Semen Indonesia.
- Nuraini, A. I., & Ratni, N. (2023). Pengaruh Waktu Dan Nutrien Pada Proses Fermentasi Sampah Organik Menjadi Bioetanol Dengan Metode Ssf. *Envirous*, 1(2), 76–82.
- Otterstedt, K., Larsson, C., Bill, R. M., Ståhlberg, A., Boles, E., Hohmann, S., & Gustafsson, L. (2004). Switching the mode of metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO reports*, 5(5), 532-537

- Pammi, N., Bhukya, K. K., Lunavath, R. K., & Bhukya, B. (2021). Bioprospecting of Palmyra Palm (*Borassus flabellifer*) Nectar: Unveiling the Probiotic and Therapeutic Potential of the Traditional Rural Drink. *Frontiers in Microbiology*, 12(June), 1–16.
- Pasotti, L., Zucca, S., Casanova, M., Micoli, G., Cusella De Angelis, M. G., & Magni, P. (2017). Fermentation of lactose to ethanol in cheese whey permeate and concentrated permeate by engineered *Escherichia coli*. *BMC Biotechnology*, 17(1), 1–12.
- Pertamina. (2020). *Pertamina 2020 Energi*.
- Petrezselyová, S., Zahradka, J., & Sychrová, H. (2010). *Saccharomyces cerevisiae* Tok1p channel is required for efficient plasma-membrane depolarization. *FEMS Yeast Research*, 10(2), 143–150.
- Pontoh, J., Gunawan, I., & Fatimah, F. (2020). Analisa Kandungan Protein Dalam Nira Aren. *E-Journal Universitas Sam Ratulangi*, 4(2), 75–79.
- Roca-mesa, H., Sendra, S., Mas, A., Beltran, G., & Torija, M. J. (2020). Nitrogen preferences during alcoholic fermentation of different non-saccharomyces yeasts of oenological interest. *Microorganisms*, 8(2).
- Rajo, M. C., Talia, P. M., Lerena, M. C., Ponsone, M. L., Gonzalez, M. L., Becerra, L. M., Mercado, L. A., Martín-Arranz, V., Rodríguez-Gómez, F., Arroyo-López, F. N., & Combina, M. (2023). Evaluation of different nitrogen sources on growth and fermentation performance for enhancing ethanol production by wine yeasts. *Heliyon*, 9(12).
- Santos, J., Leitão-Correia, F., Sousa, M. J., & Leão, C. (2015). Ammonium is a key determinant on the dietary restriction of yeast chronological aging in culture medium. *Oncotarget*, 6(9), 6511–6523.
- Nor Shahirah, M. N., Gimbut, J., Pang, S. F., Zakria, R. M., Cheng, C. K., Chua, G. K., & Asras, M. F. F. (2015). Influence of nutrient addition on the bioethanol yield from oil palm trunk sap fermented by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 23, 213–217.
- Shihab, M. Q. (2002). Tafsir Al-Mishbah: Kesan, Pesan dan Keserasian Al-Qur'an, Volume 07. *Jakarta : Lentera Hati*, 7, 568.
- Sholikhah, Siti Mar'atus. 2010. Kajian Kadar Etanol Air Nira Siwalan dan Asam Asetat dalam Cairan Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Gas (GC). Skripsi. Jurusan Kimia UIN Maliki Malang.
- Sumardiono, S., Matin, H. H. A., Sulistianingtias, I., Nugroho, T. Y., & Budiyo, B. (2023). Effect of physical and biological pretreatment on sugarcane bagasse waste-based biogas production. *Materials Today: Proceedings*, 87, 41–44.
- Syam, D. S., Patang, P., & Fadilah, R. (2023). Analisis Kualitas Nata De Nipah Melalui Penambahan Limbah Cair Tahu Sebagai Sumber Nitrogen. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 9(1), 113.
- Tambunan, P. (2010). Untuk Menambah Pendapatan Penduduk (The Potential And

- Policy For Lontar Development To Increase The People Income). *Jurnal Analisis Kebijakan Kehutanan*, 7(1), 27–45.
- Tamimi, A., Ana Mufarida, N., & Bahri, M. H. (2025). Produksi Bioetanol dari Limbah Kulit Jeruk Siam dengan Variasi Konsentrasi Pretreatment Alkali dan Lama Fermentasi Anaerob di Kabupaten Jember. *Jurnal Penelitian Inovatif*, 5(3), 2291–2300.
- Tesfaw, A., & Assefa, F. (2014). Current Trends in Bioethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* : Substrate, Inhibitor Reduction, Growth Variables, Coculture, and Immobilization . *International Scholarly Research Notices*, 2014, 1–11.
- Topaloğlu, A., Esen, Ö., Turanlı-Yıldız, B., Arslan, M., & Çakar, Z. P. (2023). From *Saccharomyces cerevisiae* to Ethanol: Unlocking the Power of Evolutionary Engineering in Metabolic Engineering Applications. *Journal of Fungi*, 9(10).
- Tse, T. J., Wiens, D. J., & Reaney, M. J. T. (2021). Production of bioethanol—a review of factors affecting ethanol yield. *Fermentation*, 7(4), 1–18.
- Tyas Ramadhani, R., Arrachmah, N., Chempro, S., & Suprianti, L. (2023). Proses Pembuatan Bioetanol dari buah naga merah. *Chempro*, 1(2), 53–57.
- Utami, Nur Khofifatul (2023) Pengaruh Lama Fermentasi Dan Penambahan Urea Terhadap Kadar Bioetanol Substrat Limbah Nira Siwalan. Undergraduate Thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Wahyu Kurniawati, M., Zeni Ulma, & Prayuda Alfian Arya Pratama. (2025). Pemanfaatan Limbah Kulit Pisang Kepok untuk Produksi Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam Klorida. *Jurnal Teknologi*, 18(1), 8–15.
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4), 1–12.
- Wu, Y., Li, B., Miao, B., Xie, C., & Tang, Y. Q. (2022). *Saccharomyces cerevisiae* employs complex regulation strategies to tolerate low pH stress during ethanol production. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 1–16.
- Yang, Q., Liu, X., Li, Y., Zhang, J., Zhao, X., & Bai, F. (2022). Screening and transcriptomic analysis of the ethanol-tolerant mutant *Saccharomyces cerevisiae* YN81 for high-gravity brewing. *Frontiers in Microbiology*, 13

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data hasil kadar etanol

Perlakuan	Ulangan		Jumlah	Rata-rata
	1	2		
N0H2	6.2	6.4	12.6	6.3
N0H3	6.6	6.8	13.4	6.7
N0H4	7	7.2	14.2	7.1
N0H5	6.8	6.6	13.4	6.7
N2H2	6.8	6.6	13.4	6.7
N2H3	7	7.2	14.2	7.1
N2H4	7.2	7.4	14.6	7.3
N2H5	7	7.2	14.2	7.1
N4H2	9.2	9.4	18.6	9.3
N4H3	9.4	9.6	19	9.5
N4H4	9	8.8	17.8	8.9
N4H5	8.6	8.4	17	8.5
N6H2	9.4	9.6	19	9.5
N6H3	9	8.8	17.8	8.9
N6H4	8.6	8.4	17	8.5
N6H5	12	12.2	24.2	12.1

Lampiran 2. Data hasil derajat keasaman (pH)

Perlakuan	Ulangan		Jumlah	Rata-rata
	1	2		
N0H2	4,7	4,9	9,6	4,8
N0H3	4,2	4,4	8,6	4,3
N0H4	4,4	3,5	7,9	3,95
N0H5	2,7	2,9	5,6	2,8
N2H2	4,6	4,8	9,4	4,7
N2H3	4	4,2	8,2	4,1
N2H4	3,3	3,5	6,8	3,4
N2H5	2,6	2,8	5,4	2,7
N4H2	4,5	4,7	9,2	4,6
N4H3	4,1	4,3	8,4	4,2
N4H4	3,6	3,8	7,4	3,7
N4H5	2,6	2,8	5,4	2,7
N6H2	4,5	4,7	9,2	4,6
N6H3	4,1	4,1	8,4	4,2
N6H4	3,6	3,5	7,4	3,7
N6H5	2,6	2,5	5,4	2,7

Lampiran 3. Hasil analisis statistik pengaruh kombinasi konsentrasi NPK dan lama waktu fermentasi terhadap kadar etanol

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Pemberian NPK/gr	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar bioetanol %	0	.128	8	.200 [*]	.983	8	.975
	0,2	.221	8	.200 [*]	.938	8	.592
	0,4	.170	8	.200 [*]	.952	8	.736
	0,6	.220	8	.200 [*]	.884	8	.205

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

	waktu fermentasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar bioetanol %	2	.265	8	.103	.838	8	.072
	3	.266	8	.101	.850	8	.094
	4	.261	8	.117	.842	8	.078
	5	.258	8	.126	.834	8	.066

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Statistik Two-Way ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: kadar bioetanol %

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	98.220 ^a	15	6.548	327.400	.000
Intercept	2244.500	1	2244.500	112225.000	.000
NPK	83.380	3	27.793	1389.667	.000
Waktu	4.260	3	1.420	71.000	.000
NPK * Waktu	10.580	9	1.176	58.778	.000
Error	.320	16	.020		
Total	2343.040	32			
Corrected Total	98.540	31			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .994)

3. Uji Lanjut DMRT

waktu fermentasi=2

Duncan^a

Pemberian NPK/gr	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0	2	6.3000			
0,2	2		6.7000		
0,4	2			9.3000	
0,6	2				12.1000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

waktu fermentasi=3

Duncan^a

Pemberian NPK/gr	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	2	6.7000		
0,2	2	7.1000		
0,4	2		9.5000	
0,6	2			11.4000
Sig.		.099	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

waktu fermentasi=4

Duncan^a

Pemberian NPK/gr	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	2	7.1000		
0,2	2	7.3000		
0,4	2		8.9000	
0,6	2			10.7000
Sig.		.230	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

waktu fermentasi=5

Duncan^a

Pemberian NPK/gr	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0	2	6.7000		
0,2	2		7.1000	
0,4	2			8.5000
0,6	2			8.7000
Sig.		1.000	1.000	.230

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Pemberian NPK/gr=0

Duncan^a

waktu fermentasi	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2	2	6.3000	
3	2	6.7000	6.7000
5	2	6.7000	6.7000
4	2		7.1000
Sig.		.050	.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Pemberian NPK/gr=0,2

Duncan^a

waktu fermentasi	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2	2	6.7000	
3	2	7.1000	7.1000
5	2	7.1000	7.1000
4	2		7.3000
Sig.		.050	.236

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Pemberian NPK/gr=0,4

Duncan^a

waktu fermentasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5	2	8.5000		
4	2		8.9000	
2	2			9.3000
3	2			9.5000
Sig.		1.000	1.000	.230

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Pemberian NPK/gr=0,6

Duncan^a

waktu fermentasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
5	2	8.7000			
4	2		10.7000		
3	2			11.4000	
2	2				12.1000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Lampiran 4. Hasil analisis statistik pengaruh kombinasi konsentrasi NPK dan lama waktu fermentasi terhadap pH fermentasi

1. Uji normalitas

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Pemberian NPK / gr	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pH Bioetanol	0	.156	8	.200 [*]	.943	8	.643
	0,2	.133	8	.200 [*]	.951	8	.726
	0,4	.154	8	.200 [*]	.921	8	.437
	0,6	.146	8	.200 [*]	.942	8	.634

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality							
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Waktu Fermentasi (hari)	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pH Bioetanol	2 hari	.196	8	.200 [*]	.931	8	.521
	3 hari	.128	8	.200 [*]	.983	8	.975
	4 hari	.193	8	.200 [*]	.928	8	.494
	5 hari	.157	8	.200 [*]	.956	8	.773

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Statistik Two-Way ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: pH Bioetanol					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18.680 ^a	15	1.245	62.267	.000
Intercept	450.000	1	450.000	22500.000	.000
NPK	.330	3	.110	5.500	.009
Waktu	18.210	3	6.070	303.500	.000
NPK * Waktu	.140	9	.016	.778	.639
Error	.320	16	.020		
Total	469.000	32			
Corrected Total	19.000	31			

a. R Squared = .983 (Adjusted R Squared = .967)

Lampiran 5. Perhitungan kadar bioetanol berdasarkan gravitasi jenis sampel menggunakan piknometer

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

Diketahui :

Massa piknometer kosong 1 (M1) : 10,7247

Massa piknometer berisi aquades (Maquades) : 20.9620

Massa piknometer kosong 2 (M2) : 10,6933

Massa piknometer berisi sampel (Msampel) : 21,0515

Selanjutnya, hasil tersebut dimasukkan dalam rumus Gravitasi Jenis :

$$\begin{aligned} \text{SG Sampel} = x &= \frac{(\text{berat piknometer berisi desilat}) - \text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat piknometer berisi aquades}) - \text{berat piknometer kosong}} \\ &= \frac{20.9360 - 10.7365}{21.0725 - 10.7110} \\ &= \frac{10.1995}{10.3623} \\ &= \mathbf{0.98383} \end{aligned}$$

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

Temperature °C	Percentages of Volume at 20°C									
	12.0	12.2	12.4	12.6	12.8	13.0	13.2	13.4	13.6	13.8
10	0.984 67	0.984 46	0.984 25	0.984 05	0.983 84	0.983 63	0.983 43	0.983 23	0.983 02	0.982 82
11	0.984 62	0.984 41	0.984 20	0.983 99	0.983 78	0.983 57	0.983 36	0.983 16	0.982 95	0.982 75
12	0.984 57	0.984 36	0.984 14	0.983 93	0.983 71	0.983 50	0.983 29	0.983 08	0.982 88	0.982 67
13	0.984 50	0.984 29	0.984 07	0.983 86	0.983 64	0.983 43	0.983 22	0.983 01	0.982 80	0.982 59
14	0.984 44	0.984 22	0.984 01	0.983 79	0.983 58	0.983 36	0.983 15	0.982 94	0.982 72	0.982 51
15	0.984 39	0.984 17	0.983 95	0.983 73	0.983 51	0.983 29	0.983 08	0.982 86	0.982 65	0.982 43
16	0.984 34	0.984 12	0.983 89	0.983 67	0.983 44	0.983 22	0.983 00	0.982 79	0.982 57	0.982 36
17	0.984 27	0.984 05	0.983 83	0.983 60	0.983 38	0.983 16	0.982 94	0.982 72	0.982 50	0.982 28
18	0.984 22	0.984 00	0.983 77	0.983 55	0.983 32	0.983 10	0.982 88	0.982 66	0.982 43	0.982 21
19	0.984 17	0.983 94	0.983 71	0.983 49	0.983 26	0.983 03	0.982 81	0.982 58	0.982 36	0.982 13
20	0.984 10	0.983 87	0.983 64	0.983 42	0.983 19	0.982 96	0.982 73	0.982 51	0.982 28	0.982 06
21	0.984 05	0.983 82	0.983 59	0.983 36	0.983 13	0.982 90	0.982 67	0.982 44	0.982 21	0.981 98
22	0.984 00	0.983 76	0.983 53	0.983 29	0.983 06	0.982 82	0.982 59	0.982 36	0.982 13	0.981 90
23	0.983 93	0.983 70	0.983 46	0.983 23	0.982 99	0.982 76	0.982 53	0.982 30	0.982 06	0.981 83
24	0.983 89	0.983 65	0.983 41	0.983 18	0.982 94	0.982 70	0.982 46	0.982 23	0.981 99	0.981 76
25	0.983 83	0.983 59	0.983 35	0.983 11	0.982 87	0.982 63	0.982 39	0.982 16	0.981 92	0.981 69
26	0.983 77	0.983 53	0.983 29	0.983 05	0.982 81	0.982 57	0.982 33	0.982 09	0.981 85	0.981 61
27	0.983 72	0.983 48	0.983 23	0.982 99	0.982 74	0.982 50	0.982 26	0.982 02	0.981 78	0.981 54
28	0.983 66	0.983 42	0.983 17	0.982 93	0.982 68	0.982 44	0.982 20	0.981 95	0.981 71	0.981 46
29	0.983 61	0.983 36	0.983 11	0.982 87	0.982 62	0.982 37	0.982 12	0.981 88	0.981 63	0.981 39
30	0.983 54	0.983 29	0.983 04	0.982 79	0.982 54	0.982 29	0.982 04	0.981 80	0.981 55	0.981 31
31	0.983 49	0.983 24	0.982 99	0.982 73	0.982 48	0.982 23	0.981 98	0.981 73	0.981 49	0.981 24
32	0.983 44	0.983 19	0.982 93	0.982 68	0.982 42	0.982 17	0.981 92	0.981 67	0.981 42	0.981 17
33	0.983 37	0.983 12	0.982 87	0.982 61	0.982 36	0.982 11	0.981 86	0.981 60	0.981 35	0.981 09
34	0.983 32	0.983 06	0.982 81	0.982 55	0.982 30	0.982 04	0.981 78	0.981 53	0.981 27	0.981 02
35	0.983 26	0.983 00	0.982 74	0.982 49	0.982 23	0.981 97	0.981 71	0.981 46	0.981 20	0.980 95
36	0.983 21	0.982 95	0.982 69	0.982 44	0.982 18	0.981 92	0.981 66	0.981 40	0.981 15	0.980 89
37	0.983 15	0.982 89	0.982 63	0.982 37	0.982 11	0.981 85	0.981 59	0.981 33	0.981 07	0.980 81
38	0.983 10	0.982 84	0.982 58	0.982 31	0.982 05	0.981 79	0.981 53	0.981 27	0.981 00	0.980 74
39	0.983 05	0.982 79	0.982 52	0.982 26	0.981 99	0.981 73	0.981 47	0.981 20	0.980 94	0.980 67
40	0.983 00	0.982 73	0.982 47	0.982 20	0.981 94	0.981 67	0.981 41	0.981 14	0.980 88	0.980 61

(Continued)

IS 3506 : 1989

Lampiran 6. Proses pengambilan sampel dan pasteurisasi



- Sampel nira siwalan yang diambil dari pohon setelah di sadap, kemudian disimpan dalam botol



- Proses pasteurisasi nira siwalan

Lampiran 7. Proses penimbangan sebelum perlakuan terhadap sampel



- Proses penimbangan ragi dan NPK yang akan digunakan sebagai perlakuan pada proses fermentasi

Lampiran 8. Proses fermentasi dan pengukuran pH

	• Proses fermentasi menggunakan rangkaian toples dan selang
	• Hasil setelah fermentasi nira siwalan
	• Proses pengukuran pH menggunakan pH meter

Lampiran 9. Destilasi fermentasi nira siwalan

	• Proses destilasi hasil fermentasi nira siwalan
	• Destilat hasil dari proses destilasi

Lampiran 10. Penghitungan kadar bioethanol nira siwalan



- Proses penghitungan kadar bioethanol menggunakan piknometer menggunakan timbangan analitik



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341) 551354, Fax. (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 200602110102
 Nama : MUHAMMAD HAFIZUL HAQIQI
 Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
 Jurusan : BIOLOGI
 Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.
 Dosen Pembimbing 2 : Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I
 Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : PRODUKSI BIOETHANOL DARI LIMBAH BUAH SIWALAN (BORASSUS FLABELLIFER) DENGAN VARIASI HIDROLISIS ASAM DAN LAMA FERMENTASI

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	06 Mei 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Konsultasi judul	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	27 Mei 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Konsultasi BAB 1	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	13 Juni 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Revisi BAB 1 dan konsul bab 2	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
4	19 Juli 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Bimbingan BAB 3	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
5	24 Juli 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Revisi BAB 3	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
6	31 Juli 2024	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Revisi BAB 3	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
7	02 Agustus 2024	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I	Bimbingan Integrasi	Genap 2023/2024	Sudah Dikoreksi
8	25 Agustus 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	Revisi	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	01 Desember 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I	revisi integrasi ayat	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	02 Desember 2025	Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN,M.S.I	acc integrasi ayat	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	03 Desember 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	revisi bab 4	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	10 Desember 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	konsultasi bab 4 dan 5	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
13	16 Desember 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	bimbingan bab 4	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
14	17 Desember 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	revisi bab 4	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
15	18 Desember 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	revisi bab iv	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
16	19 Desember 2025	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	revisi bab iv	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
17	06 Januari 2026	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	revisi bab iv	Genap 2026/2027	Sudah Dikoreksi
18	07 Januari 2026	Prof. Dr. EVIKA SANDI SAVITRI,M.P.	acc naskah	Genap 2026/2027	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2



Dr. M. MUKHLIS FAHRUDDIN, M.S.I

Malang, _____

Dosen Pembimbing 1



Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.



Kajur. Kaprodi,



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001



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 Hafizul Haqiqi

NIM : 200602110102

Judul : Pengaruh Konsentrasi Nutrien NPK dan Lama Waktu Fermentasi dan Lama Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioethanol Nira Siwalan

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc	22 %	
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		



Mengarahui,
Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113199402201