

## Sintesis Bioetanol dari Limbah Sabut Pinang (*Arecha catechu L.*) melalui Variasi Konsentrasi Asam Klorida Dan Waktu Hidrolisis

### *Bioethanol Synthesis from Areca Nut (*Arecha catechu L.*) Fiber Waste through Variations in Hydrochloric Acid Concentration and Hydrolysis Time*

**Sefrinus Maria Dolfi Kolo<sup>1\*</sup>, Eduardus Edi<sup>1</sup>, Desidarius Aki<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian Sains dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu  
Jln. Km.09, Kota Kefamenanu, 85762, Indonesia

\*Email: [sefrichem@unimor.ac.id](mailto:sefrichem@unimor.ac.id)

#### ABSTRAK

DOI:  
[10.30595/jrst.v10i1.26945](https://doi.org/10.30595/jrst.v10i1.26945)

Article information:

Received:  
14/06/2025

Revised:  
17/02/2026

Accepted:  
01/03/2026

Bioetanol dihasilkan melalui fermentasi glukosa oleh mikroba dari biomassa yang mengandung gula, pati, selulosa, dan lignoselulosa. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh variasi konsentrasi asam klorida dan waktu hidrolisis terhadap perolehan gula pereduksi dan konsentrasi bioetanol dari sabut pinang. Penelitian ini menggunakan dua variabel independen, yaitu variasi konsentrasi asam dan waktu hidrolisis terhadap konsentrasi asam optimum. Metode yang digunakan adalah metode hidrolisis terpisah dan fermentasi dengan variasi konsentrasi asam klorida 1; 3; 5; dan 7% serta variasi waktu hidrolisis antara 40; 50; 60; dan 70 menit pada suhu 200 °C. Fermentasi dilakukan dengan inokulum 10% menggunakan *khamir Saccharomyces cerevisiae* pada suhu kamar selama 4 hari dengan kecepatan pengadukan 200 rpm. Analisis gula pereduksi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, sedangkan kadar etanol dianalisis menggunakan instrumen GC-FID. Hasil analisis menunjukkan kadar gula pereduksi optimum sebesar 65.25% yang diperoleh pada konsentrasi asam klorida 3% dan waktu hidrolisis 60 menit. Analisis etanol menggunakan GC-FID menunjukkan tiga puncak dengan waktu retensi etanol 3.263 menit dan perolehan kadar etanol sebesar 22.29%.

**Kata Kunci:** Pinang, Hidrolisis, Fermentasi, Bioetanol, Energi.

#### ABSTRACT

*Bioethanol is produced through the fermentation of glucose by microbes from biomass containing sugar, starch, cellulose, and lignocellulose. This study aims to determine the effect of varying concentrations of hydrochloric acid and hydrolysis time on the yield of reducing sugars and bioethanol concentration from areca nut husks. This study uses two independent variables, namely variations in acid concentration and hydrolysis time on the optimum acid concentration. The method used is the separate hydrolysis method and fermentation with variations in hydrochloric acid concentration of 1; 3; 5; and 7% and variations in hydrolysis time between 40; 50; 60; and 70 minutes at a temperature of 200°C. Fermentation was carried out with 10% inoculum using *Saccharomyces cerevisiae* yeast at room temperature for 4 days with a stirring speed of 200 rpm. Analysis of reducing sugars was carried out using a UV-Vis spectrophotometer, while ethanol content was analyzed using a GC-FID instrument. The results of the analysis showed that the optimum reducing sugar content was 65.25% obtained at a hydrochloric acid concentration of 3% and a hydrolysis time of 60 minutes. Ethanol analysis*

using GC-FID showed three peaks with an ethanol retention time of 3.263 minutes and an ethanol content of 22.29%.

**Keywords:** Areca Nut, Hydrolysis, Fermentation, Bioethanol, Energy.

## 1. PENDAHULUAN

Peningkatan konsumsi bahan bakar di Indonesia terus meningkat tiap tahun, berbanding terbalik dengan ketersediaan dan produksinya. Menurut data ESDM (2021), cadangan minyak bumi Indonesia berjumlah 3,95 miliar barel, sedangkan total konsumsi bahan bakar oleh masyarakat Indonesia mencapai 909,24 juta barel pada tahun yang sama. Jika konsumsi minyak bumi ini terus berlanjut tanpa ditemukannya cadangan minyak baru, maka jumlah minyak akan habis dalam jangka waktu yang singkat di tahun-tahun mendatang. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, maka diterbitkan Peraturan Presiden Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2006, tentang Kebijakan Energi Nasional dalam rangka Pengembangan Sumber Energi Alternatif Pengganti BBM (Lovisia, 2022). Salah satu energi alternatif yang dapat digunakan adalah bioetanol.

Bioetanol dihasilkan melalui fermentasi glukosa oleh mikroba dari biomassa yang mengandung gula, pati, selulosa, dan lignoselulosa (Widyastuti et al., 2022). Selulosa banyak ditemukan dalam limbah pertanian. Limbah ini merupakan sumber energi potensial dan membentuk bahan selulosa yang dapat diubah menjadi etanol (Mahardhika et al., 2018). Salah satu biomassa yang dapat dijadikan bahan baku produksi bioetanol adalah sabut pinang.

Sabut pinang merupakan bagian dari buah pinang yang memiliki tekstur berserat. Berdasarkan data BPS Provinsi NTT tahun 2023, Kabupaten Malaka memiliki luas tanam pinang mencapai 197 hektar pada tahun 2022 (Bere, 2023). Masyarakat hanya memanfaatkan buah pinang untuk dikonsumsi maupun dijual ke pasar, sedangkan sabut pinangnya dilepaskan begitu saja ke lingkungan sehingga mendorong perlu dilakukan penelitian terhadap bahan baku tersebut. Menurut (Batu et al., 2022), sabut pinang mengandung senyawa selulosa sebesar 63,20%. Karena kandungan selulosanya tinggi, sabut pinang berpotensi digunakan sebagai bahan baku produksi bioetanol. Selulosa dapat diubah menjadi gula melalui proses hidrolisis.

Telah dilakukan penelitian terbaru terkait bioetanol dari sabut pinang yang menggunakan

metode *Separate Hydrolysis and Fermentation* (SHF) oleh Naiheli et al., (2024). Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh variasi konsentrasi asam klorida dan waktu hidrolisis terhadap perolehan gula pereduksi dan konsentrasi bioetanol dari sabut pinang. Penelitian tersebut dilakukan dengan memvariasi waktu hidrolisis pada suhu 150°C dan konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2% dan menghasilkan kadar etanol sebesar 18,8%. Kegiatan penelitian yang dilakukan yakni memanfaatkan sabut pinang asal Kabupaten Malaka dengan metode yang sama untuk mendapatkan kadar bioetanol. Jenis asam yang digunakan adalah asam klorida (HCl). Penelitian ini akan dilakukan untuk memperoleh gula pereduksi, dengan variasi konsentrasi Asam Klorida (HCl) dan variasi waktu hidrolisis terhadap konsentrasi asam optimum serta memperoleh kadar etanol hasil produksi sabut pinang. Kadar gula pereduksi akan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis double-beam, dan kadar etanol akan dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Flame Ionization Detector* (GC-FID).

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Preparasi Sampel

Limbah sabut pinang yang digunakan sebagai sampel dikumpulkan dari wilayah Lakulo Sunan, di Desa Raisamane, Kecamatan Rinhat, Kabupaten Malaka, Provinsi Nusa Tenggara Timur, Indonesia. Metode preparasi untuk sabut pinang telah modifikasi dari studi yang dilakukan oleh (Jayanna et al., 2019) dan (Kolo, Obenu, Bria, Abi, et al., 2024). Prosesnya dimulai dengan mencuci sampel limbah sabut pinang, lalu dilakukan pengeringan di bawah sinar matahari selama 24 jam agar kadar airnya berkurang. Selanjutnya, sabut pinang dikeringkan dalam oven (Mimmert) pada suhu 80°C selama 4 hingga 6 jam. Kemudian, sabut pinang dicacah dan dihaluskan hingga mencapai ukuran sekitar ± 0,1 mm.

### 2.2 Hidrolisis

Proses hidrolisis dikembangkan dari metode yang diterapkan oleh Kolo et al., (2023) dengan tujuan konversi selulosa menjadi glukosa.

Larutan HCl dengan konsentrasi 1, 3, 5, dan 7% diencerkan dalam labu erlenmeyer (Tipe Pyrex) berukuran 250 mL. Proses hidrolisis sabut pinang dilakukan dalam *microwave* (Tipe Kirin) dengan langkah-langkahnya yaitu mencampurkan 10 gram serbuk sabut pinang dengan 250 ml larutan HCl 1, 3, 5, dan 7%, lalu dipanaskan dalam *microwave* pada suhu 200°C selama 60 menit. Hidrolisis berikutnya memvariasi waktu hidrolisis seperti 40; 50; 60; dan 70 menit terhadap konsentrasi asam optimum pada suhu 200°C. Setelah proses hidrolisis, filtratnya disaring dan residunya dibuang. Filtrat tersebut mengandung larutan glukosa hasil konversi serbuk sabut pinang. Selanjutnya, NaOH 2M ditambahkan ke dalam larutan hidrolisat hingga pH mencapai 4,5. Hidrolisat akan dianalisis untuk kadar gula pereduksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Type Innova-Double Beam), dan kemudian difermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* (Schmidt et al., 2025).

### 2.3 Uji Gula Pereduksi

Konsentrasi gula pereduksi dalam sampel ditentukan menggunakan reagen asam dinitrosalisilat (DNS). Prosedurnya mengikuti metode yang dikembangkan oleh (Kolo, et al., 2024) dengan membuat larutan glukosa standar 0, 200, 400, 800, 1200, 1600, dan 2000 ppm. Sebanyak 1 mL dari setiap larutan ditambahkan dengan 3 mL reagen DNS, kemudian diaduk rata dan diinkubasi selama 5 menit dalam air. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Type INNOVA: Double Beam) pada panjang gelombang 540 nm. Konsentrasi gula pereduksi dalam sampel diukur dengan cara yang serupa pada larutan glukosa standar. Absorbansi sampel kemudian diplot pada kurva standar untuk menentukan konsentrasi gula pereduksi dalam sampel.

### 2.4 Proses Fermentasi

Proses fermentasi dirancang berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Bello et al., (2025); Naiheli et al., (2024). Langkah awal dalam proses fermentasi melibatkan pembuatan kultur starter dengan konsentrasi 10%. Inokulum dibuat dalam labu Erlenmeyer berukuran 1000 ml dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dari ragi kemasan. Inokulum tersebut diinokulasi dengan 350 ml media awal yang mengandung glukosa dengan 0,1 g/L *yeast extract*, 0,1306 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,1502 g/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , dan 1,2021 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Sebelum

inokulasi dilakukan, media disterilisasi dan didinginkan. Setelah itu, 35 gram ragi ditambahkan ke dalam media dan diinkubasi selama 4 hari.

### 2.5 Distilasi

Setelah fermentasi berlangsung selama 4 hari, hasilnya disaring untuk memperoleh filtrat. Sebuah set peralatan distilasi disiapkan, lalu filtrat dimasukkan ke dalam labu distilasi. Distilasi bertingkat dilakukan pada suhu 78 °C (titik didih etanol) selama 1–2 jam hingga tetesan etanol berhenti (Kolo, Obenu, & Rohi, 2022). Pada suhu tersebut, etanol hasil fermentasi lebih mudah menguap daripada air yang titik didihnya 100°C, sehingga memungkinkan untuk memperoleh etanol dengan kemurnian yang lebih tinggi (Kolo et al., 2024). Setelah itu, dilakukan pengujian kadar etanol menggunakan alat instrumen GC-FID.

### 2.6 Uji Kualitatif Etanol

Untuk melakukan uji kualitatif etanol, 2 mL larutan  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  2% dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes asam sulfat pekat, diikuti dengan penambahan 1 mL sampel yang akan diuji. Adanya etanol ditandai dengan perubahan warna larutan dari jingga menjadi hijau kebiruan (Nggai et al., 2022).

### 2.7 Analisa Kadar Etanol

Disiapkan sampel yang komposisinya tidak diketahui dan larutan standar yang komposisinya telah diketahui. Instrumen GC dengan detektor FID harus dioperasikan pada suhu hingga 200 °C. Ukur tekanan nanometer dalam tabung 3,5 kg/m<sup>2</sup>. Sesuaikan kecepatan gas pembawa (helium) hingga 300 mL/menit dari sisi ke sisi. Ambil 1 µL larutan etanol standar kemudian diinjeksikan, puncak etanol akan muncul pada kromatogram. Injeksikan 1 µL larutan sampel bioetanol dan buat kromatogram. Bandingkan kromatogram standar dan kromatogram sampel (Kolo, et al., 2024).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Preparasi Sampel

Pada penelitian ini dimulai dengan pengumpulan sampel di lokasi wilayah kab. Malaka, karena memiliki luas areal tanaman pinang sekitar 197 hektar yang tersebar di 12

Kecamatan. Salah satunya adalah Kecamatan Rinhat, Desa Raisamane yang menjadi titik pengumpulan sampel pada penelitian ini. Sampel yang telah dikumpul dilakukan pencucian untuk menghilangkan zat pengotornya. Kemudian dilakukan penjemuran dibawah sinar matahari selama 2 hari. Sampel diperkecil ukurannya hingga mencapai  $\pm 0,01$  mm. Semakin kecil ukuran maka semakin luas permukaan sampel, sehingga sampel lebih mudah terkonversi menjadi gula saat proses hidrolisis berlangsung (Kolo et al., 2021).

### 3.2 Hidrolisis dan Analisa Gula

Hidrolisis merupakan proses pemecahan molekul selulosa atau hemiselulosa dengan bantuan air dan katalis (Bria & Kolo, 2023). Proses hidrolisis pada penelitian ini dilakukan dengan dua tinjauan variabel bebas yakni variasi konsentrasi asam klorida (HCl) dan variasi waktu terhadap konsentrasi asam optimum. Filtrat diuji gula dengan metode DNS menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Filtrat yang dihasilkan melalui peningkatan konsentrasi asam dan lama waktu hidrolisis mengakibatkan warna hidrolisat menjadi pekat. Perubahan warna ini disebabkan oleh konversi molekul polisakarida menjadi monosakarida (Naiheli et al., 2024).

Dalam penentuan kadar gula pereduksi didasarkan pada pembentukan produk reduksi yang memiliki warna merah kecoklatan, sebagaimana terlihat dalam **Gambar 1**. Proses ini terjadi ketika gula mereduksi 3,5-dinitrosalicyclic (DNS) menjadi 3-amino-5-nitrosalicyclic acid saat dipanaskan, seperti yang terlihat dalam **Gambar 2**.

Analisis gula pada panjang gelombang 540 nm, karena pada panjang gelombang tersebut warna merah coklat memiliki kemampuan untuk menyerap secara maksimal (Galung, 2021). Semakin banyak gula pereduksi yang terdapat dalam sampel, maka semakin banyak pula molekul 3-amino-5-nitrosalicyclic yang terbentuk, sehingga penyerapannya akan semakin tinggi (Kolo, Obenu, & Tuas, 2022).

Langkah awal dalam menentukan kadar gula pereduksi adalah mempersiapkan larutan

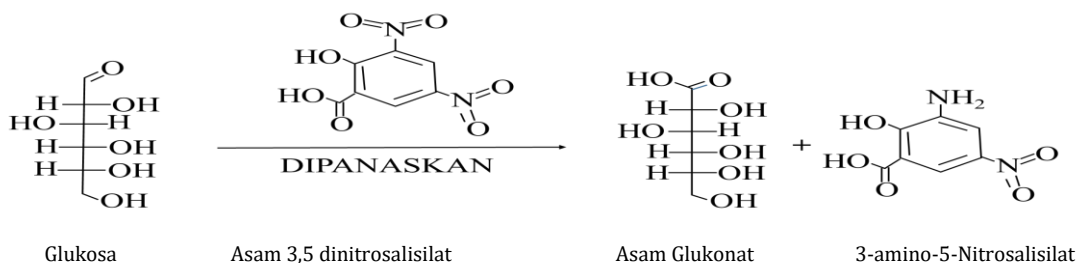
standar glukosa standar dan kurva standar. Persamaan regresi untuk kurva standar mengikuti metode Bria & Kolo, (2023), yang dirumuskan sebagai  $y = 0,0005x + 0,0155$ . Dengan menggunakan persamaan tersebut, nilai absorbansi untuk setiap sampel dapat dihitung sehingga diperoleh kadar gula pereduksinya, sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 3 dan 5.

#### 3.2.1 Variasi Konsentrasi terhadap Perolehan Gula

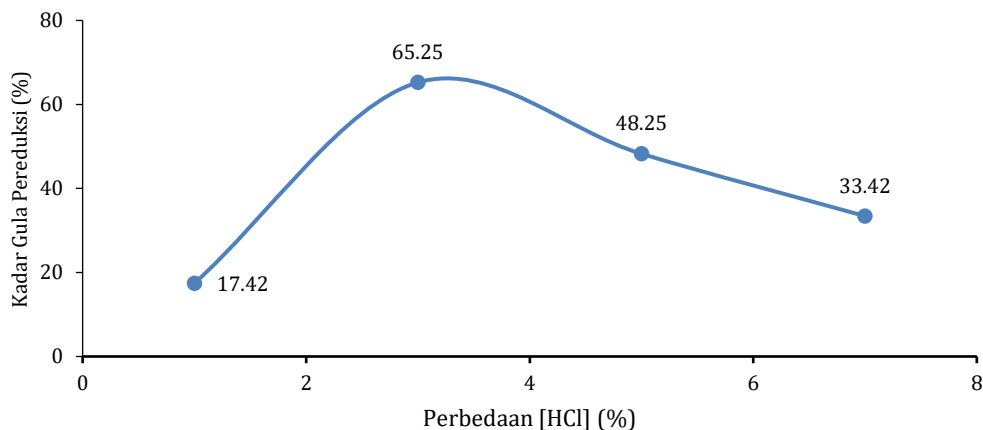
Variasi konsentrasi asam klorida yang digunakan adalah 1, 3, 5, dan 7%. Salah satu keuntungan menggunakan asam klorida untuk proses hidrolisis adalah bahwa garam yang terbentuk setelah penambahan basa merupakan garam yang tidak berbahaya, yaitu garam dapur (Ahmad et al., 2020). Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan asam klorida pada suhu  $200^{\circ}\text{C}$  dengan durasi hidrolisis selama 60 menit. Berdasarkan grafik (**Gambar 3**), terlihat bahwa kadar gula pereduksi secara bertahap meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi asam klorida, dari 17,42% pada konsentrasi asam klorida 1%, kadar gula pereduksi meningkat secara signifikan menjadi 65,25% pada konsentrasi asam klorida 3%. Namun, kemudian kadar gula pereduksi mengalami penurunan menjadi 48,25% dan 33,42% pada konsentrasi asam klorida masing-masing 5 dan 7%.



**Gambar 1.** Perubahan Warna Hidrolisat dengan Metode DNS



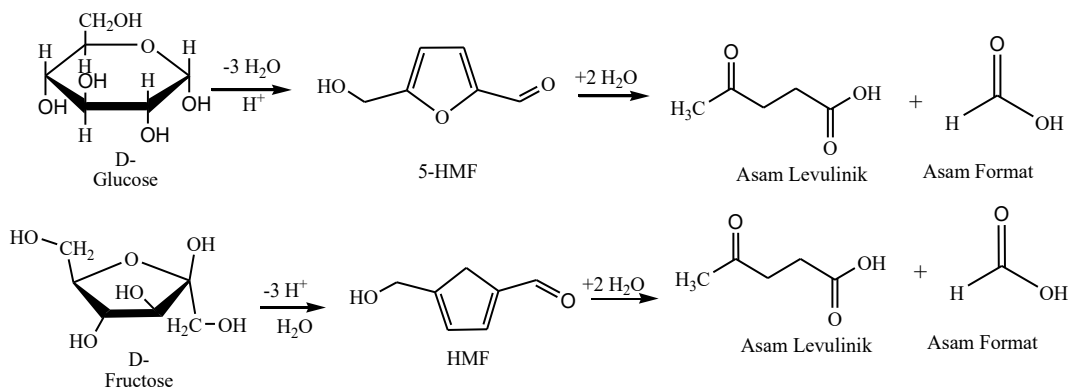
**Gambar 2.** Reaksi Kimia antara Glukosa dengan DNS (Kolo et al., 2023).



**Gambar 3.** Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Klorida terhadap kadar gula

Semakin tinggi konsentrasi asam yang digunakan dalam proses hidrolisis, semakin tinggi pula kadar gula pereduksi yang dihasilkan. Namun, penelitian menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi asam klorida hingga 5 dan 7% tidak menghasilkan peningkatan kadar gula, melainkan justru mengalami sedikit penurunan. Pada kondisi asam yang tinggi, glukosa dan senyawa gula lainnya cenderung

terdegradasi menjadi senyawa 5-hidroksimetilfurfural dan furfural, yang menyebabkan berkurangnya jumlah glukosa yang dihasilkan (Kolo et al., 2020) (Shirvanyan et al., 2025). Jika senyawa 5-hidroksimetilfurfural terus bereaksi dalam suasana asam, maka akan terbentuk asam organik seperti asam levulinat dan asam format (**Gambar 4**) (Han et al., 2022)(Kolo, et al., 2024).



**Gambar 4.** Produk Samping Hasil Degradasi Lanjut Gula (Jakob et al., 2024)

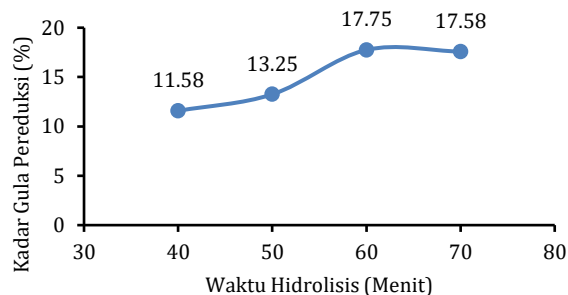
### 3.2.2 Variasi Waktu terhadap Perolehan Gula

Setelah ditemukan kadar gula terbaik pada konsentrasi HCl 3% sebesar 65,25%, selanjutnya dilanjutkan dengan hidrolisis melalui variasi waktu 40, 50, 60, dan 70 menit. Berdasarkan grafik (**Gambar 5**), terlihat bahwa dalam waktu 40 menit sampai 60 menit, terjadi peningkatan gula pereduksi, masing-masing sebesar 11,58%, 13,25%, dan 17,75%. Hal ini disebabkan oleh waktu kontak yang lebih lama antara bahan baku dengan larutan asam, sehingga selulosa maupun hemiselulosa lebih mudah diubah menjadi glukosa dan senyawa gula lainnya (Jakob et al., 2024). Namun, setelah waktu 70 menit, kadar gula pereduksi mengalami penurunan menjadi 17,58%. Hal ini menunjukkan bahwa setelah waktu 70 menit, jumlah gula pereduksi sudah mengalami peningkatan nilai optimum yang terjadi pada waktu 60 menit. Gula pereduksi yang terbentuk kemudian terdekomposisi kembali menjadi senyawa lain seperti 5-hidroksimetilfurfural (HMF), dan reaksi ini terus berlanjut membentuk asam format, sedangkan lignin yang belum terdelignifikasi terdegradasi membentuk senyawa fenolik (Ayuni & Hastini, 2020) (Bria & Kolo, 2023) (**Gambar 4**).

Hasil perolehan ini sudah sejalan dengan teori, bahwa substrat yang baik untuk proses fermentasi berkisar antara 14-18%. Jika konsentrasi substrat melebihi 18%, pertumbuhan ragi akan terhambat dan membutuhkan waktu fermentasi yang lebih lama. Akibatnya, hanya sedikit substrat yang dapat dimetabolisme, sehingga rendemen etanol yang dihasilkan akan rendah. Sebaliknya, jika konsentrasi substrat kurang dari 14%, maka konsentrasi etanol yang dihasilkan juga akan rendah (Zhou et al., 2024).

Efisiensi fermentasi etanol menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi gula, yang mengakibatkan peningkatan tekanan osmotik medium atau jumlah sel yang melebihi kapasitas akibat konsentrasi substrat yang tinggi. Konsentrasi substrat yang tinggi menghambat pertumbuhan sel ragi, yang menyebabkan tekanan osmotik tinggi dan konsentrasi air yang rendah. Hal ini menyebabkan sel ragi menjadi dehidrasi. Hal ini juga meningkatkan viabilitas sel sehingga proses metabolisme karbohidrat (fermentasi etanol) meningkat (Wiratno et al., 2014). Selain itu, gula yang dikonsumsi ragi diubah menjadi CO<sub>2</sub>, etanol, dan metabolit lainnya. Konsentrasi gula yang lebih tinggi pada sampel, menyebabkan stres osmotik yang lebih besar pada sel

ragi. Beberapa studi telah melaporkan bahwa stres osmotik menyebabkan penurunan laju fermentasi dan, akibatnya, penurunan produksi CO<sub>2</sub> sehingga kadar etanol yang dihasilkan rendah (Timmermans et al., 2022).



**Gambar 5.** Variasi Waktu Hidrolisis Terhadap Konsentrasi HCl Optimum

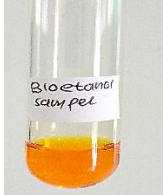

### 3.4 Fermentasi

Filtrat gula yang diperoleh selanjutnya difementasi menggunakan *khamir Saccharomyces cerevisiae*. Kondisi keasaman (pH) optimal untuk pertumbuhan ragi ini adalah pH 4,5 (Kolo, et al., 2024). Oleh karena itu, dalam proses fermentasi gula yang diperoleh dari hidrolisis asam, larutan hidrolisis ditambahkan dengan 250 mL basa menggunakan NaOH 2M hingga mencapai pH 4,5 yang merupakan kondisi lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan ragi. Proses fermentasi dalam penelitian ini dilakukan dalam kondisi anaerobik, dengan menggunakan inokulum sebanyak 10%, yang terdiri dari hidrolisat dan larutan nutrisi dengan volume 350 mL, serta ragi seberat 35 gram. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 4 hari kemudian didistilasi pada suhu 70-80°C selama sekitar 1 jam (Naiheli et al., 2024).

### 3.5 Uji Kualitatif Etanol

Hasil dari proses destilasi dianalisis secara kualitatif menggunakan larutan kalium dikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) 2%. Tujuannya adalah untuk mengidentifikasi apakah hasil distilasi atau sampel tersebut mengandung etanol. Berdasarkan hasil pengujian yang tercatat dalam **Tabel 1**, terlihat bahwa terjadi perubahan warna pada sampel, dari warna jingga menjadi biru tua. Perubahan warna ini menunjukkan positif adanya etanol dalam sampel. Hal ini sejalan dengan temuan oleh (Nggai et al., 2022).

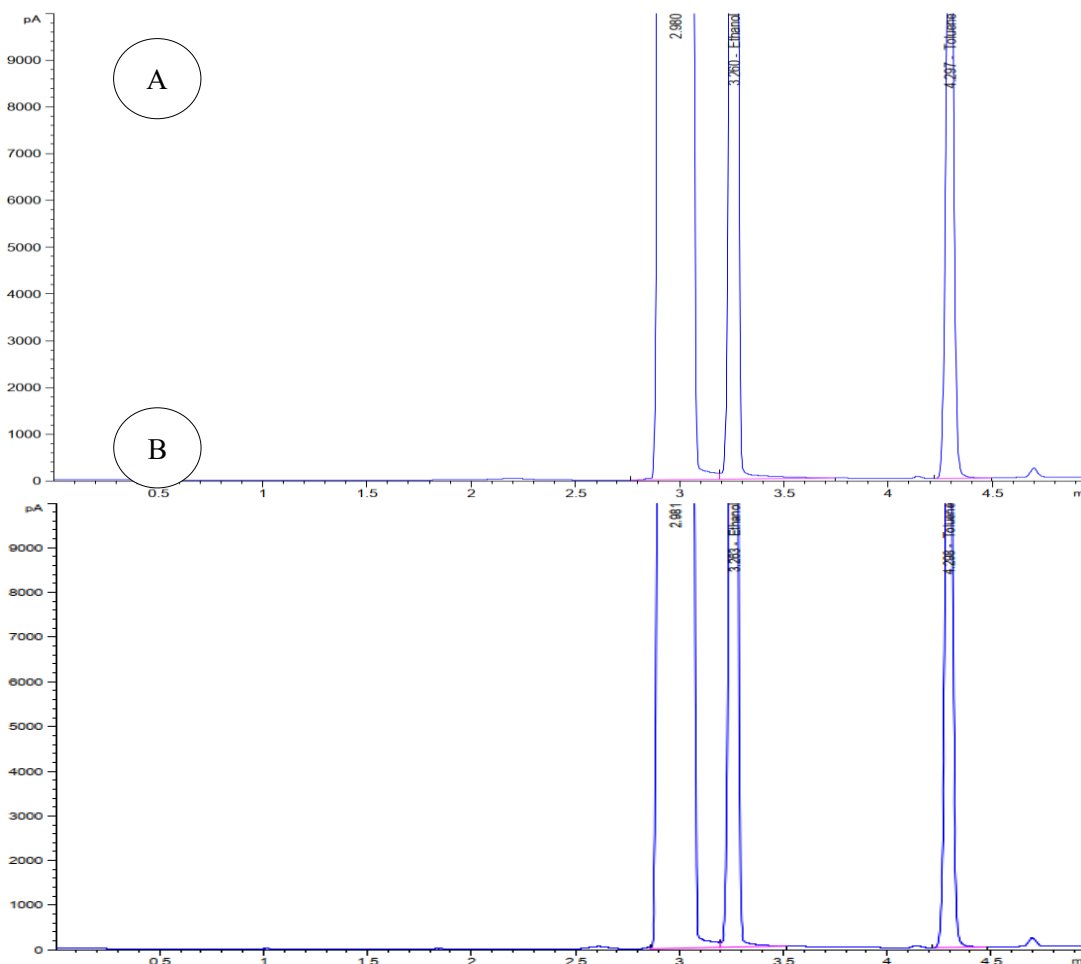
**Tabel 1.** Uji Kualitatif Bioetanol

Sampel	Hasil Uji	
	Sebelum	Sesudah
Etanol Sabut Pinang		

Data yang tercantum dalam **Tabel 1**, menunjukkan bahwa sampel mengalami perubahan warna setelah ditambahkan larutan kalium dikromat 2%. Perubahan warna ini disebabkan oleh terjadinya reaksi oksidasi antara senyawa alkohol ( $C_2H_5OH$ ) dalam sampel dengan  $K_2Cr_2O_7$ , yang menghasilkan senyawa aldehida ( $CH_3CHO$ ).

### 3.6 Analisa Kadar Etanol

Hasil analisis kromatogram GC dapat dilihat pada **Gambar 6**. Kromatogram tersebut, teridentifikasi adanya 3 puncak atau 3 komponen senyawa, yang mana bioetanol terdeteksi pada waktu retensi 3,263 menit yang mirip dengan kromatogram etanol standar yang terdeteksi pada waktu retensi 3,260 menit. Sementara itu, toluena yang merupakan standar internal dan heksana sebagai pelarut muncul pada waktu retensi masing-masing sekitar 4,298 menit dan 2,981 menit. Perbedaan waktu retensi antara ketiga komponen senyawa, disebabkan oleh interaksi ketiga komponen dengan fasa diam, dimana senyawa dengan titik didih lebih rendah cenderung menguap lebih cepat dan memiliki waktu retensi yang lebih cepat pula (Kolo et al., 2021). Perbandingan antara kromatogram etanol standar dan etanol sampel menunjukkan waktu retensi yang hampir sama atau sedikit berbeda, seperti yang terlihat pada **Gambar 6**.



**Gambar 6.** Kromatogram GC-FID, A) Etanol Standar, B) Etanol Sampel

Tabel 2. Hasil Analisis Etanol

Inokulum	Hari	Kadar Etanol	Rendemen	Efisiensi Fermentasi
10%	4	22,29 %	24,65 %	48,33 %

Berdasarkan data pada **Tabel 2**, fermentasi dengan inokulum 10% selama 4 hari diperoleh kadar etanol sebesar 22,29%. Perolehan hasil ini kemudian dijadikan dasar untuk menghitung rendemen dan efisiensi fermentasi, sebagaimana terlihat pada tabel tersebut. Rendemen etanol mencerminkan jumlah etanol yang berhasil dihasilkan dari substrat yang digunakan, sedangkan nilai efisiensi fermentasi digunakan sebagai indikator keberhasilan proses fermentasi. Semakin tinggi nilai efisiensi fermentasi, semakin besar pula jumlah etanol yang dihasilkan (Naiheli et al., 2024)(Kolo et al., 2020).

Berdasarkan perbandingan dengan studi sebelumnya (**Tabel 3**), terlihat bahwa dalam penelitian oleh (Jayanna et al., 2019), menggunakan hidrolisis enzimatis menghasilkan kadar gula yang bervariasi pada variabel bebasnya, dengan masing-masing diperoleh kadar gula tertinggi pada pH 6, suhu 30°C dan waktu hidrolisis 5 hari. Selanjutnya dihasilkan kadar etanol tertinggi pada mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dengan pH optimum 6 dapat menghasilkan kadar etanol sebesar 12 gr/L.

Penelitian terbaru oleh (Kolo, et al., 2024) menggunakan metode hidrolisis asam dengan tiga katalis asam yang berbeda (HCl 7%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3%, HNO<sub>3</sub> 7%), menghasilkan kadar gula tertinggi pada katalis HCl 7% sebesar 84.70 g/L pada suhu 200°C dalam waktu 60 menit. Adapun etanol yang dihasilkan dari hidrolisis dengan HCl pada pH optimal 4.5, dengan inokulum terbaik pada konsentrasi 12%, menghasilkan kadar etanol 43.40% pada hari ke-7 fermentasi.

Selain itu, penelitian oleh Naiheli et al., (2024) dilakukan dengan menggunakan sabut pinang, menghidrolisis dengan asam sulfat 2% selama 60 menit pada suhu 150°C, menghasilkan kadar gula sebesar 41.1 gr/L, serta mampu mengubah gula menjadi etanol dengan kandungan etanol sebesar 18.88% selama 7 hari fermentasi. Terdapat kesamaan antara penelitian ini dengan penelitian oleh (Jayanna et al., 2019)

dan (Naiheli et al., 2024), karena menggunakan bahan baku yang sama, yaitu sabut pinang. Sedangkan penelitian oleh (Kolo, et al., 2024) menggunakan waktu dan suhu hidrolisis yang sama.

Dalam penelitian ini, efisiensi penggunaan gula terbilang lebih rendah daripada hasil temuan yang dilaporkan oleh (Jayanna et al., 2019) dan (Naiheli et al., 2024), dan (Kolo, et al., 2024), yakni hanya 71 mg/L atau sekitar 0,71 g/L. Kemungkinan disebabkan oleh perbedaan metode dalam pengolahan dan katalis yang digunakan dalam proses hidrolisis, serta perbedaan dalam jenis bahan baku yang dipergunakan. Terdapat pula kemungkinan faktor-faktor tambahan yang berpengaruh terhadap hasil selama proses analisis sampel.

Sedangkan perolehan gula menjadi etanol dalam penelitian ini lebih besar dibandingkan yang dilaporkan oleh Naiheli et al., (2024). Dalam penelitiannya, menggunakan inokulum dengan konsentrasi 8% dan fermentasi selama 7 hari, hanya menghasilkan kandungan etanol sebesar 18,88%. Sebaliknya, dalam penelitian ini, dengan menggunakan inokulum 10% dan hanya fermentasi selama 4 hari, menghasilkan kandungan etanol mencapai 22,29%.

Sebagai perbandingan, penelitian ini menunjukkan kandungan etanol yang lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Kolo, et al., (2024) memperoleh kandungan etanol yang tinggi, yakni 44,29%, dengan menggunakan konsentrasi inokulum sebesar 12% pada hari ke-7 fermentasi. Terdapat beragam faktor yang mungkin menjadi penyebab perbedaan ini, seperti fluktuasi suhu fermentasi, durasi proses distilasi, dan faktor-faktor lain yang mungkin terjadi selama proses pengujian sampel (Nadliroh & Fauzi, 2021) (Andara et al., 2025).

**Tabel 3.** Perbandingan Hasil Penelitian dengan Penelitian Terkait.

Hidrolisis Enzimatik		Fermentasi		Referensi
Kondisi	Kadar Gula	Kondisi	Kadar Bioetanol	
SHF pH 6; Suhu 30°C; Waktu 5 hari	52 mg/g; 54 mg/g; 58 mg/g	Suhu 30°C; pH 6; Inokulum 3%; <i>S.cerevisiae</i>	11 gr/L; 12 gr/L; 11,8 gr/L	(Jayanna et al., 2019)
Hidrolisis Asam		Fermentasi		Referensi
10 gr sampel; HCl 7%, Suhu 200°C, Waktu 60 m; H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3%, Suhu 150°C, Waktu 50 m; HNO <sub>3</sub> 7%, Suhu 200°C, Waktu 60 m; Volume 250 mL	HCl: 84,70 g/L; H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 97,06 g/L; HNO <sub>3</sub> 86,53 g/L	pH 4,5 Inokulum 12% Waktu Fermentasi hari ke-7 <i>S.cerevisiae</i>	42,32%; 43,40%	
10 gr sampel; H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2%; Waktu 60 m; Suhu 150°C; Volume 250 mL	41,1 g/L	Inokulum 8%; <i>S.cerevisiae</i> ; Waktu Fermentasi 7 hari	18,88%	(Naiheli et al., 2024)
10 gr sampel; HCl 3%; Waktu 60 m; Suhu 200°C; Volume 250 mL	71 mg/L; 0,71 g/L; 17,75%	Inokulum 10% <i>S.cerevisiae</i> Waktu Fermentasi 4 hari	22,29%	Penelitian Ini

#### 4. KESIMPULAN

Hasil hidrolisis sabut pinang diperoleh kadar gula pereduksi pada konsentrasi optimum HCl 3% yaitu sebesar 65,25% pada suhu 200 °C selama 60 menit. Hasil analisis data kromatogram GC terdeteksi senyawa etanol pada waktu retensi 3,263 menit dengan perolehan kadar etanol sebesar 22,29%, pada waktu fermentasi selama 4 hari menggunakan mikroba *Saccharomyces cerevisiae*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Muria, R., & Hilmiyati, D. (2020). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengaruh Konsentrasi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Asam Sulfat) pada Proses Hidrolisis dan Waktu Fermentasi Terhadap Pemanfaatan Limbah Sagu Menjadi Bioetanol. *Jurusan Teknik Kimia*, 14–15.
- Andara, S., ZA, N., Kamar, I., Jalaludin, J., & Fibarzi, W. U. (2025). Pembuatan Bioetanol Dari Kulit Nanas Dengan Metode Hidrolisis Dan Fermentasi Dengan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Chemical Engineering Journal Storage*, 5(5), 937–948. <https://doi.org/https://doi.org/10.29103/cejs.v5i5.21332>
- Batu, M. S., Naes, E., & Kolo, M. M. (2022). Pembuatan Karbon Aktif Dari Limbah Sabut Pinang Asal Pulau Timor Sebagai Biosorben Logam Ca Dan Mg Dalam Air Tanah. In *Jurnal Integrasi Proses* (Vol. 11, Issue 1). <http://jurnal.untirta.ac.id/index.php/jip>
- Bello, A., Ibrahim, U. B., Fardami, A. Y., Farouq, A. A., & Karaye, I. U. (2025). Bioethanol Production from Bitter Yam Peels Using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. *FUOYE Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(3), 1–17.

- <https://doi.org/10.55518/fjpas.RILT3476>
- Bere, R. B. (2023). *Kabupaten Malaka Dalam Angka 2023*.
- Bria, P. M., & Kolo, S. M. D. (2023). Synthesis from Brown Seaweed (Sargassum sp) from Timor Island as Renewable Energy. *Eksergi. Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*, 20(3), 162–167. <https://doi.org/10.31315/e.v201i3>
- Galung, F. S. (2021). Analisis Kandungan Karbohidrat (Glukosa) Pada Salak Golla – Golla *Salacca edulis*. *Journal of Agrit*, 5(1), 10–14.
- Han, S., Lee, S. M., & Kim, J. S. (2022). Kinetic Study of Glucose Conversion to 5-hydroxymethylfurfural and Levulinic Acid Catalyzed by Sulfuric Acid. *Korean Chemical Engineering Research*, 60(2), 193–201.
- Jakob, A., Likoazar, B., & Grilc, M. (2024). Model-Assisted Optimization of Xylose, Arabinose, Glucose, Mannose, Galactose and Real Hemicellulose Streams Dehydration To (Hydroxymethyl)Furfural and Levulinic Acid. *ChemSusChem*, 17(24), 1–15.
- Jayanna, N. K. K., Rajanna, S. K. S., Nayaka, S. S., Sheshagiri, A., Kumar, R. K. S., & Basaiah, T. (2019). Effect of Biological Pre-Treatment With the Selective Fungi *Aspergillus Niger* and *Phanerochaete Chrysosporium Ncim 1197* on Enzymatic Hydrolysis of Areca Nut (*Areca Catechu L.*) Husk for Bioethanol Production By Yeasts and *Zymomonas Mobilis Ncim 2915*. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 21(1), 179–188.
- Kolo, S. M. D., Obenu, N. M., Bria, P. M., Abi, H., Seran, B. B., & Wahyuningrum, D. (2024). The Optimization of Initial Treatment of Seaweed *Ulva reticulata* Using CEM Synthesizer Method for Bioethanol Production. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 11(2), 403–412. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.1336106>
- Kolo, S. M. D., Obenu, N. M., Bria, P. M., Klau, W. H., Abi, M. O., Tae, J. S., & Wahyuningrum, D. (2024). The Effect of Fermentation Time, pH and *Saccharomyces Cerevisiae* Concentration for Bioethanol Production from *Ulva Reticulata Macroalgae*. *Trends in Sciences*, 21(5). <https://doi.org/10.48048/tis.2024.7484>
- Kolo, S. M. D., Obenu, N. M., Kefi, L., & Fuel, F. F. (2023). Optimasi Proses Hidrolisis Rumput Laut *Ulva Reticulata* dengan Pelarut HNO<sub>3</sub> untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Riset Kimia*, 14(1), 12–23. <https://doi.org/10.25077/jrk.v14i1.574>
- Kolo, S. M. D., Obenu, N. M., & Rohi, N. T. (2022). Pengaruh Perlakuan Awal Ampas Biji Jewawut (*Setaria italica L.*) dengan Microwave Irradiation untuk Produksi Bioetanol. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 18(2), 183–192.
- Kolo, S. M. D., Obenu, N. M., & Tuas, M. Y. C. (2022). Pengaruh Pretreatment Makroalga *Ulva Reticulata* Menggunakan Microwave Irradiation Untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Kimia*, 16(2), 212–219.
- Kolo, S. M. D., Presson, J., & Amfotis, P. (2021). Produksi Bioetanol sebagai Energi Terbarukan dari Rumput Laut *Ulva reticulata* Asal Pulau Timor. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(2), 159–167. <https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/>
- Kolo, S. M. D., Wahyuningrum, D., & Hertadi, R. (2020). The Effects of Microwave-Assisted Pretreatment and Cofermentation on Bioethanol Production from Elephant Grass. *International Journal of Microbiology*, 2020(November), 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/6562730>
- Lovisia, E. (2022). Bioetanol dari Singkong sebagai Sumber Energi Alternatif. *Science, and Physics Education Journal (SPEJ)*, 6(1), 8–14. <https://doi.org/10.31539/spej.v6i1.5007>
- Mahardhika, K. M. D., Suwandi, & Bharata, H. A. (2018). Proses Pembuatan Bioetanol dari Jerami Padi dengan Metode SSF Delignifikasi Asam dan Metode SHF. *e-Proceeding of Engineering*, 5(1), 954–958.
- Nadliroh, K., & Fauzi, A. S. (2021). Optimasi Waktu Fermentasi Produksi Bioetanol dari Sabut Kelapa Muda Melalui Distilator Refluks. *Jurnal Pendidikan Teknik Mesin Undiksha*, 9(2), 124–133. <https://doi.org/10.23887/jptm.v9i2.39002>
- Naiheli, O., Kolo, S. M. D., Mere, J. K., & Bria, P. M. (2024). Sintesis Bioetanol Dari Limbah

- Pinang (*Areca catechu* L.) Dengan Microwave Irradiasi Menggunakan Katalis  $H_2SO_4$ . *Redoks*, 9(1), 23–30.
- Nggai, S. Y. M., Kolo, S. M. D., & Sine, Y. (2022). Pengaruh Perlakuan Awal Hidrolisis Ampas Sorgum (*Sorghum Bicolor* L.) terhadap Fermentasi untuk Produksi Bioetanol sebagai Energi Terbarukan. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 10(2), 33–40.
- Schmidt, A. R., Dresch, A. P., Marth, J., Giehl, A., Fogolari, O., Dallago, R. M., Treichel, H., Mibielli, G. M., Alves Jr, S. L., & Bender, J. P. (2025). Impact of Oxalic Acid Pretreatment on the Solubility and Fermentability of Hemicelluloses in Brewer ' s Spent Grain. *Industrial Biotechnology*, 21(5), 330–343. <https://doi.org/10.1089/ind.2024.0045>
- Shirvanyan, A., Daniyarova, A., Vassilian, A., Poladyan, A., Kumar, G., Orynbekov, D., Bekbayev, K., & Trchounian, K. (2025). Biomass and Bioethanol Production from Pretreated Mixed Fruit Peel Hydrolysate using *Saccharomyces Cerevisiae* Strains at Different pH and Oxygen Conditions. *BMC Biotechnology*, 25(136), 1–18.
- Timmermans, E., Bautil, A., Brijs, K., Scheirlinck, I., Meulen, R. Van Der, & Courtin, C. M. (2022). Sugar Levels Determine Fermentation Dynamics during Yeast Pastry Making and Its Impact on Dough and Product Characteristics. *Foods*, 11(1388), 1–18.
- Widyastuti, D. A., Minarti, I. B., & Ula, N. (2022). Pengaruh Variasi Massa Ragi *Saccharomyces cerevisiae* Dan Lama Fermentasi Terhadap Densitas Dan Rendemen Bioetanol Alang-Alang (*Imperata Cy- lindrica*). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, VIII(1), 54–59. <https://doi.org/https://doi.org/10.26877/jitek.v8i1/Mei.12572>
- Wiratno, E. N., Ardyati, T., & Wardani, A. K. (2014). Effect of Reducing Sugar and Total Nitrogen to Ethanol Production from Molasses by *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Experimental Life Science*, 4(2), 50–55.
- Zhou, J., Lv, P., He, B., Wu, J., Wang, G., Ma, H., Wang, Y., & Chen, G. (2024). Optimisation of the Ethanol Fermentation Process Using Hydrothermal Pretreatment of Cellulose Waste — Effect of Fermentation Pattern and Strain. *Molecules*, 2024(29), 1–13.