

Pengaruh Suhu Dan Waktu Hidrolisis Biji Alpukat (*Persea americana* M.) Menggunakan Katalis Hcl Terhadap Produksi Bioetanol

Yovita Nonseo¹⁾, Sefrinus M. Kolo¹⁾, Janrigo K. Mere¹⁾, Patrisius Maryanto Bria^{1*)}

¹⁾Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian Sains dan Kesehatan, Universitas Timor

*)*coresponding email: patrisbria11@gmail.com*

Abstrak

Peningkatan populasi yang tinggi serta perkembangan industri mengakibatkan konsumsi energi yang semakin tinggi yang berdampak pada terjadinya krisis energi. Untuk mengatasi masalah tersebut perlu dikembangkan energi terbarukan seperti bioetanol. Bioetanol dapat diproduksi dari bahan baku yang mengandung karbohidrat seperti biji alpukat. Biji alpukat memiliki kandungan karbohidrat sebesar 29,6%. Kebaruan dari penelitian ini yaitu menggunakan biji alpukat yang dikonversi menjadi bioetanol dengan bantuan katalis asam klorida (HCl). Pada proses hidrolisis dilakukan optimasi pada variasi waktu dan suhu pemanasan. Hidrolisat yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis gula pereduksi menggunakan metode DNS pada instrumen UV-Vis. Waktu dan suhu pemanasan yang menghasilkan kadar gula tertinggi digunakan untuk proses fermentasi. Bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi dimurnikan menggunakan alat distilasi bertingkat. Kadar gula pereduksi yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 83,32 g/L pada waktu pemanasan 60 menit dan suhu 250°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat kandungan bioetanol karena terjadi perubahan warna dari jingga menjadi biru pada hasil analisis kualitatif bioetanol. Konsentrasi bioetanol yang dianalisis menggunakan *hand refractometer* sebesar 70% dan 42,92% yang dianalisis menggunakan GC-FID.

Kata Kunci: Bioetanol, Biji Alpukat, Hidrolisis, Fermentasi, Distilasi

PENDAHULUAN

Pertumbuhan penduduk yang semakin pesat di dunia diiringi dengan perkembangan teknologi dan alat transportasi yang semakin maju, menyebabkan konsumsi energi semakin meningkat. Konsumsi energi paling tinggi di Indonesia didominasi oleh sektor industri yaitu sekitar 49,4% dari total konsumsi energi nasional, diikuti oleh sektor transportasi sebesar 34% serta sektor rumah tangga dan bangunan komersial masing-masing menggunakan sekitar 12,2% dan 4,4%, sedangkan cadangan energi minyak bumi semakin menurun (Ayuni & Hastini, 2020). Konsumsi bahan bakar minyak di Indonesia mengalami peningkatan, yang berbanding terbalik dengan ketersediaannya, apabila digunakan secara terus menerus maka akan habis dimasa yang akan datang. Oleh Karena itu perlu dikembangkan energi alternatif yang dapat diperbaharui untuk menopang cadangan energi fosil. Beberapa tahun terakhir ini para peneliti telah melakukan penelitian untuk memperoleh bahan bakar nabati dari sumber daya alam terbarukan seperti biodiesel, biogas, dan bioetanol (Kolo & Edi, 2018).

Bioetanol merupakan salah satu sumber bahan bakar alternatif yang dihasilkan dari bahan baku nabati, melalui proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat dengan bantuan mikroorganisme (Wusnah et al., 2019). Bioetanol dapat dikembangkan dari bahan baku yang memiliki kandungan lignoselulosa. Hal ini dikarenakan material yang mengandung lignoselulosa telah terbukti berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan (Sriana et al., 2021). Bahan baku tersebut berupa hasil pertanian seperti jagung, ubi, tebu, dan kentang, tetapi bahan-bahan tersebut tentunya akan bersaing dengan ketersediaan pangan. Untuk mengatasi masalah tersebut perlu dilakukan penelitian bioetanol dari bahan baku non pangan seperti: sabut pinang, sabut buah lontar, serta lainnya. Salah satu bahan baku yang dimanfaatkan dalam penelitian ini adalah biji alpukat.

Alpukat (*Persea americana* M.) merupakan buah yang adaptif pada berbagai iklim, termasuk daerah sedang dan subtropis. Daging buahnya, yang sebagian besar terdiri dari minyak, menjadikan alpukat sebagai sumber nutrisi yang baik (Pratama et al., 2021). Di daerah beriklim tropis dan banyak dijumpai di Nusa Tenggara Timur. Pemanfaatan alpukat hanya sebatas buahnya saja, tetapi pada bagian biji alpukat dibuang sebagai limbah yang tidak bermanfaat dan mencemarkan lingkungan. Didalam biji alpukat terdapat pati sebesar 29,6% yang dapat digunakan sebagai sumber bahan baku pembuatan bioetanol (Al Lukman, 2019). Penelitian oleh (Muin et al., 2014) melaporkan bahwa biji alpukat dapat dikonversi menjadi bioetanol menggunakan metode variasi konsentrasi dan waktu fermentasi dan diperoleh kandungan bioetanol sebesar 17,40%. (Sefrinus Maria Dolfi Kolo et al., 2021) melaporkan kadar etanol yang dihasilkan dari rumput laut *Ulva reticulata* sebesar 5,02% menggunakan metode variasi suhu dan waktu fermentasi. Namun penelitian yang diajukan ini belum pernah dilakukan, yaitu konversi biji alpukat menjadi bioetanol menggunakan katalis asam klorida (HCl). Oleh karena itu, penulis akan melakukan penelitian dengan metode yang sama, menggunakan bahan baku yang berbeda.

Pada penelitian ini, biji alpukat yang diambil dari Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU) dikonversi menjadi bioetanol melalui proses hidrolisis asam encer menggunakan katalis HCl melalui variasi waktu dan suhu. Tekstur karbohidrat sebelum dan sesudah hidrolisis dianalisis kadar gula pereduksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, analisis kualitatif etanol menggunakan larutan dikromat dan kadar bioetanol hasil produksi dianalisis menggunakan *hand refractometer* dan GC (*Gas Chromatography*).

METODOLOGI PENELITIAN

Preparasi Sampel

Biji alpukat yang diambil dari Desa Saenam Kecamatan Miomaffo Barat-TTU, dibersihkan dan dipotong kecil-kecil lalu dijemur dibawah sinar matahari hingga kering. Kemudian diblender dan mendapatkan serbuk lalu diayak dengan ayakan 35 mesh dan diperoleh tepung biji alpukat selanjutnya akan digunakan pada proses hidrolisis.

Proses Hidrolisis

Ditimbang 10gram tepung biji alpukat dan dimasukkan kedalam erlemeyer ukuran 500 ml lalu ditambahkan larutan HCl 2% selanjutnya dipanaskan dengan marowave iradiasi dengan variasi waktu 30, 40, 50, dan 60 menit dan variasi suhu 100°C, 150°C, 200°C, dan 250°C. Larutan hasil hidrolisis selanjutnya disaring dan diperoleh residu dan filtrat. Filtrat diambil untuk analisis gula pereduksi dengan metode DNS menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Kolo et al., 2021a).

Proses Fermentasi

Hasil hidrolisat diukur ph menjadi 4,5 kemudian diambil sebanyak 300 ml dan ditambahkan larutan glukosa 10 g, *yeast extract* 0,1 g, K_2PO_4 0,1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi ditambahkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 30 g dan diinkubasi selama 7 hari (Bria & Kolo, 2023).

Analisis Gula Pereduksi

Hasil hidrolisis tepung biji alpukat dianalisis menggunakan metode DNS. Proses ini dikembangkan oleh (Sasongko et al., 2019) larutan standar glukosa dengan konsentrasi 50, 100, 150, 250 ppm diambil sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dipanaskan dalam *waterbath* 100°C selama 10 menit dan didiamkan hingga suhu ruang. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm.

Proses Distilasi

Hasil fermentasi dimurnikan menggunakan distilasi bertingkat larutan hasil fermentasi dimasukkan kedalam labu distilasi yang sudah dirancang dan diatur suhu sekitar 70-80°C dan dihentikan saat semua etanol telah terpisah (Batutah, 2017).

Analisis Kualitatif Etanol ($K_2Cr_2O_7$)

Disiapkan 2 tabung reaksi dan dimasukkan 2 ml larutan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) dan ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 pekat kedalam masing-masing tabung reaksi. Selanjutnya etanol standar (etanol pa 96%) dan etanol sampel hasil distilasi biji alpukat kedalam masing-masing tabung reaksi, kemudian divorteks hingga terjadi perubahan warna dari warna jingga menjadi warna hijau kebiruan (Bria & Kolo, 2023).

Analisis Semikuantitatif Bioetanol (*Hand Refractometer*)

Bioetanol hasil distilasi diambil beberapa tetes dan ditotolkan pada prisma kemudian ditutup. Ujung *hand refractometer* diarahkan kecahaya agar dapat terbaca angka dan nilai dari konsentrasi etanol (Ningsih et al., 2018).

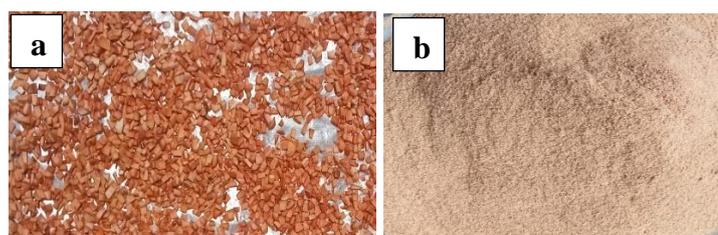
Analisis Kuantitatif Bioetanol (GC)

Sebanyak 1 μ L hasil distilasi disuntikkan kedalam kolom kromatografi melalui tempat injeksi dan diperoleh puncak kromatografi etanol (Hasanah et al., 2012)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Preparasi sampel adalah serangkaian proses yang dilakukan untuk menyiapkan suatu sampel (baik itu zat padat, cair, atau gas) agar siap untuk dianalisis atau diuji. Tujuan utama dari preparasi sampel adalah untuk mendapatkan sampel yang representatif, bersih, dan dalam kondisi yang sesuai untuk teknik analisis yang akan digunakan. Dalam penelitian ini biji alpukat diperoleh dari Kabupaten TTU, kemudian dicuci dengan tujuan untuk membersihkan sampel dari zat pengotor. Sampel yang sudah bersih selanjutnya di potong kecil-kecil dengan tujuan untuk sampel mudah dikeringkan. Sampel dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3 hari dengan tujuan untuk mengurangi kadar air dalam sampel. Selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran dengan tujuan untuk memperluas permukaan sampel (**Gambar 1**). Hal ini dilakukan karena menurut Kolo & Sine, (2019) semakin besar luas permukaan suatu sampel, maka akan semakin banyak bagian sampel yang dapat berinteraksi dengan zat lain (pelarut dan katalis dalam hal ini). Ini membuat reaksi kimia yang terjadi pada proses hidrolisis menjadi lebih cepat dan efisien. Dalam konteks pemecahan selulosa, luas permukaan yang besar membantu mempercepat proses pembentukan glukosa. Glukosa yang didapatkan dari tahapan ini selanjutnya digunakan sebagai substrat (bahan baku) pada proses fermentasi untuk menghasilkan bioetanol.



Gambar 1. Sampel Alpukat; (a) Sebelum Dihaluskan; (b) Setelah Dihaluskan.

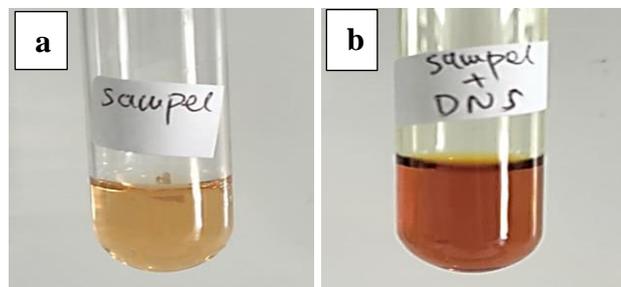
Hidrolisis Biji Alpukat (*Persea americana* M.)

Hidrolisis adalah proses pemecahan molekul besar (polisakarida) menjadi molekul kecil (monomer) dengan bantuan air (Nahak et al., 2024). Pada penelitian ini hidrolisis dilakukan dengan tujuan untuk memecah karbohidrat yang terdapat pada biji alpukat menjadi monomer glukosa yang lebih sederhana yang selanjutnya akan digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi bioetanol. Pada tahapan hidrolisis untuk memperoleh tingginya kadar glukosa dari pemutusan karbohidrat perlu memperhatikan beberapa faktor seperti pemilihan jenis katalis, suhu dan waktu hidrolisis (Wardani, 2018). Jenis katalis asam klorida (HCl) dipilih pada penelitian ini karena HCl dinilai paling optimal untuk memecah ikatan kimia dalam molekul karbohidrat, sehingga menghasilkan gula sederhana dalam jumlah yang lebih banyak (Kolo et al., 2024). Suhu pemanasan juga sangat penting untuk diperhatikan. Hal ini karena reaksi hidrolisis merupakan reaksi endotermis yang memerlukan panas untuk dapat bereaksi. Kemudian waktu hidrolisis juga sangat penting untuk diperhatikan dalam proses hidrolisis. Hal ini dikarenakan semakin lama proses hidrolisis berlangsung, semakin banyak glukosa yang dihasilkan hingga mencapai titik maksimal. Hal ini terjadi karena kontak antara sampel dan zat pereaksi menjadi lebih sempurna (Wulandari, 2017).

Selain jenis katalis, suhu dan waktu hidrolisis yang perlu diperhatikan dalam proses hidrolisis, pemilihan jenis pemanas juga sangat penting untuk diperhatikan. Hal ini dikarenakan penggunaan jenis pemanas yang salah dalam proses hidrolisis maka akan menghasilkan produk samping seperti furfural dan 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) (Herdini et al., 2020). Penerapan gelombang mikro dalam hidrolisis efektif dalam menekan pembentukan produk samping. Pemanasan langsung oleh gelombang mikro memungkinkan kontrol yang lebih presisi terhadap parameter proses, sehingga pembentukan metabolit sekunder seperti HMF dapat ditekan hingga 75% (Nggai et al., 2022).

Analisis Gula Pereduksi Menggunakan Metode *Dinitrosalicylic Acid* (DNS)

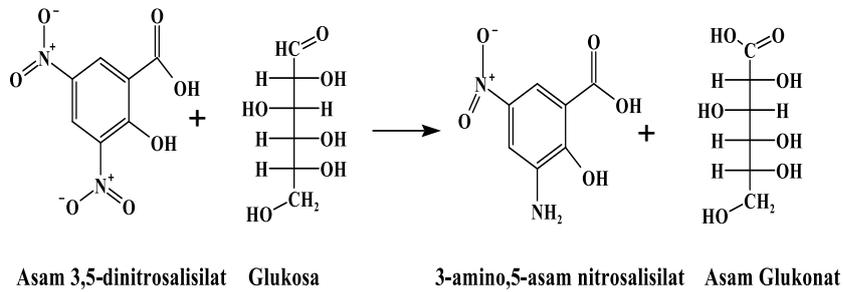
Analisis kadar gula pereduksi pada hasil hidrolisis bubuk biji alpukat dilakukan menggunakan metode DNS. Metode dinitrosalisilat (DNS) dipilih untuk analisis kadar gula pereduksi karena memiliki tingkat akurasi yang lebih tinggi, terutama untuk konsentrasi gula yang rendah. Selain itu, persiapan reagen DNS lebih sederhana, praktis, dan ekonomis dibandingkan metode Nelson-Somogyi, sehingga lebih efisien dalam penelitian ini (Bria & Kolo, 2024). Metode DNS digunakan untuk mengukur gula pereduksi karena mengandung senyawa aromatik yang bereaksi dengan gula pereduksi membentuk asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang menyerap gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nm. Reaksi ini terjadi pada lingkungan basa, sehingga adanya gula pereduksi pada sampel menyebabkan larutan berubah warna dari kuning menjadi merah bata (**Gambar 2**). Semakin banyak molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang terbentuk, maka semakin banyak pula gula pereduksi yang ada dalam sampel dan semakin tinggi daya serapnya (Naiheli et al., 2024).



Gambar 2. Hidrolisat, (a) sebelum ditambahkan DNS, (b) Setelah ditambahkan DNS dan setelah dipanaskan (Dok. Pribadi, 2024)

Berdasarkan **Gambar 2**, dapat diamati bahwa semakin tinggi kadar gula pereduksi dalam sampel, semakin intens warna merah bata yang dihasilkan pada uji DNS. Fenomena ini terjadi karena peningkatan konsentrasi gula pereduksi akan memicu pembentukan kompleks berwarna merah bata

yang lebih banyak akibat reaksi dengan reagen DNS (Sri et al., 2023). Reaksi antara gula pereduksi dengan DNS ditunjukkan pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Mekanisme Reaksi DNS menjadi 3-amino, 5 asam nitrosalisilat (Sri et al., 2023).

Hasil analisis kadar gula pereduksi menggunakan metode DNS pada hasil hidrolisis bubuk biji alpukat dengan variasi suhu dan waktu hidrolisis dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Analisis Kadar Gula Pereduksi menggunakan metode DNS

Variasi Waktu (Menit)	Kadar Gula Pereduksi (g/L)	Variasi Suhu (°C)	Kadar Gula Pereduksi (g/L)
30	36,44	100	34,49
40	48,59	150	57,59
50	66,37	200	73,87
60	76,34	250	83,32

Berdasarkan pada data penelitian yang disajikan pada **Tabel 1**, menunjukkan bahwa semakin lama proses hidrolisis dan semakin tinggi suhu yang digunakan dalam proses pemanasan maka akan semakin tinggi kadar gula pereduksi yang dihasilkan. Kadar gula pereduksi tertinggi pada penelitian ini terdapat pada waktu pemanasan 60 menit yaitu 76,34 g/L dan pada suhu pemanasan 250 °C yakni sebesar 83,32 g/L. Menurut Wulandari, (2017) semakin tinggi suhu pemanasan dan semakin lama proses hidrolisis, maka akan semakin banyak glukosa yang dihasilkan hingga mencapai titik maksimal. Ini karena semakin lama, kontak antara sampel (bubuk alpukat) dan zat pereaksi semakin baik, sehingga menghasilkan glukosa lebih tinggi. Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tambunan *et al.*, (2021) yang menggunakan bahan baku yang sama dalam proses hidrolisis yakni biji alpukat (*Persea americana* M.) dengan variasi suhu dan waktu pemanasan. Selain itu penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Naiheli *et al.*, (2024) yang menggunakan bahan baku yang berbeda namun memiliki kesamaan pada variasi waktu pemanasan. Penelitian ini memperoleh kadar gula pereduksi tertinggi sama dengan penelitian terdahulu yakni pada waktu 60 menit.

Analisis Bioetanol

Bioetanol hasil fermentasi biji alpukat (*Persea americana* M.) masih mengandung berbagai kontaminan yang perlu dihilangkan melalui proses distilasi bertingkat. Distilasi ini bertujuan untuk memisahkan bioetanol dari air, residu sel ragi, serta sisa katalis asam yang dapat menghambat kinerja bioetanol. Kemurnian bioetanol hasil distilasi kemudian dikonfirmasi secara kualitatif menggunakan larutan kalium dikromat sebagai indikator. Analisis kuantitatif lebih lanjut dilakukan menggunakan

hand refractometer dan kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala (GC-FID) untuk menentukan kadar bioetanol secara akurat.

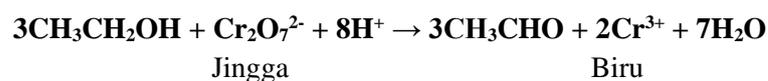
Uji Kualitatif Bioetanol (K₂Cr₂O₇)

Uji kualitatif bioetanol adalah serangkaian tes yang dilakukan untuk memastikan adanya bioetanol dalam suatu sampel. Tujuan utama uji ini adalah untuk mengidentifikasi keberadaan bioetanol secara umum, bukan untuk mengukur jumlahnya secara pasti. Pada penelitian ini bioetanol yang dihasilkan dari proses fermentasi biji alpukat yang sudah dimurnikan dengan alat distilasi bertingkat dianalisis menggunakan kalium dikromat. Penggunaan kalium dikromat dalam uji kualitatif bioetanol didasarkan pada kemampuannya untuk mengalami perubahan warna yang khas saat bereaksi dengan bioetanol. Perubahan warna ini merupakan bukti adanya reaksi redoks dan mengindikasikan keberadaan bioetanol dalam sampel (Kolo *et al.*, 2022). Menurut Bria & Kolo, (2023) dalam analisis kualitatif bioetanol menggunakan kalium dikromat sampel positif mengandung bioetanol ditunjukkan dengan perubahan warna dari jingga menjadi biru. Hasil analisis kualitatif bioetanol pada penelitian ini disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji Kualitatif Bioetanol

Sampel	Hasil Uji	Gambar	
		Sebelum	Sesudah
Bioetanol Standar	+		
Bioetanol Sampel	+		

Perubahan warna yang terjadi pada **Tabel 2** dikarena ion kromat (Cr⁶⁺) yang awalnya berwarna jingga mengalami reduksi menjadi ion kromium (Cr³⁺) yang menghasilkan warna biru. Perubahan warna ini merupakan indikasi positif adanya reaksi oksidasi-reduksi (Bria & Kolo, 2023). Perubahan warna dari oranye menjadi hijau kebiruan yang terjadi pada uji kualitatif bioetanol dengan kalium dikromat, menurut Kolo *et al.*, (2021) adalah akibat dari reduksi ion kromium heksavalen (Cr⁶⁺) menjadi ion kromium trivalen (Cr³⁺). Proses reduksi ini dipercepat dengan adanya asam sulfat yang berfungsi sebagai katalis. Reaksi oksidasi alkohol dalam larutan kalium dikromat menurut Nggai *et al.*, (2022) sebagai berikut:



Hasil Analisis Kuantitatif Bioetanol

Setelah mengetahui adanya kandungan bioetanol pada sampel hasil fermentasi bubuk alpukat yang sudah dimurnikan menggunakan metode distilasi, selanjutnya dilakukan analisis secara kuantitatif

menggunakan *hand refractometer* dan *gas chromatography* (GC) untuk mengetahui konsentrasi bioetanol. Prinsip kerja dari *hand refractometer* adalah memanfaatkan cahaya putih untuk mengukur konsentrasi alkohol dengan cara melihat sudut pembiasan cahaya tersebut (Bria & Kolo, 2024). Sedangkan prinsip dari GC FID yaitu sampel akan diuapkan dan akan dibawa oleh fase gerak ke detektor untuk mengetahui waktu retensi dan luas *peak*. Bioetanol akan ditentukan berdasarkan perhitungan dari luas *peak* itu sendiri (Faricha et al., 2014).

Pada penelitian ini analisis bioetanol menggunakan *hand refractometer* dan GC-FID dipilih karena kedua instrumen ini memiliki kelebihan tersendiri. *Hand refractometer* cocok digunakan untuk analisis cepat dan sederhana, terutama untuk pengujian lapangan atau 13oluene kualitas awal. Namun, akurasi dan informasi yang diperoleh terbatas. Sedangkan GC-FID adalah alat yang lebih canggih dan akurat untuk analisis mendalam. Cocok digunakan untuk riset, pengembangan produk, atau 13oluene kualitas yang ketat. Namun, peralatan ini lebih mahal dan membutuhkan waktu analisis yang lebih lama. Konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada penelitian ini yang dianalisis menggunakan *hand refractometer* dan GC-FID disajikan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Analisis Kuantitatif Bioetanol (*hand refractometer* dan GC-FID)

Instrumen yang digunakan	Konsentrasi Bioetanol (%)
<i>Hand Refractometer</i>	70
GC-FID	42,92

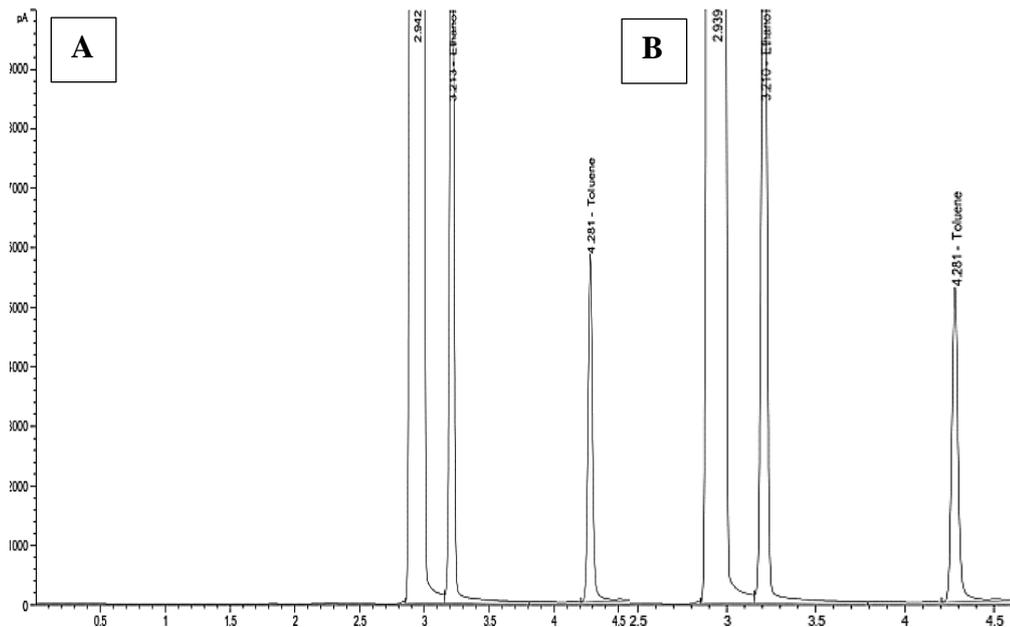
Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh pada **Tabel 3**, terlihat bahwa konsentrasi bioetanol tertinggi terdapat pada hasil analisis menggunakan *hand refractometer* dengan konsentrasi bioetanol sebesar 70%. Sedangkan analisis menggunakan GC-FID hanya memperoleh konsentrasi bioetanol sebesar 42,92%. Hal ini dikarenakan sampel bioetanol yang diperoleh dari proses distilasi langsung dianalisis menggunakan *hand refractometer* sehingga konsentrasi bioetanol yang diperoleh lebih tinggi. Sedangkan analisis menggunakan GC-FID sampel harus dikirim ke laboratorium di pulau Jawa untuk dianalisis yang membutuhkan waktu 4-8 minggu, sehingga diduga kandungan bioetanol yang terdapat pada sampel hasil distilasi telah menguap sebagian yang mengakibatkan konsentrasinya menurun. Akan tetapi jika dibandingkan kedua hasil yang diperoleh analisis menggunakan GC-FID lebih akurat karena dapat mengidentifikasi dan mengukur berbagai komponen dalam sampel, tidak hanya bioetanol sedangkan *hand refractometer* akurasi terbatas, hasil yang diperoleh dapat terpengaruh oleh suhu dan keberadaan zat lain dalam sampel.

Konsentrasi bioetanol yang diperoleh dari hasil analisis menggunakan *hand refractometer* lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Ramadhani *et al.*, (2020) menggunakan kulit buah naga, Sari *et al.*, (2020) yang menggunakan campuran buah kersen dan kulit nanas, Bria & Kolo, (2023) yang menggunakan rumput laut coklat (*sargassum sp*) dan Bria & Kolo, (2024) yang menggunakan campuran kulit pisang dan sabut pinang yang hanya memperoleh konsentrasi bioetanol kurang dari 50% sedangkan penelitian ini sebesar 70%.

Konsentrasi bioetanol yang diperoleh dari hasil analisis menggunakan GC-FID lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Kolo *et al.*, (2022) yang menggunakan bahan baku rumput makroalga *Ulva reticulata* dan Nggai *et al.*, (2022) yang menggunakan bahan baku ampas sorgum yang memperoleh bioetanol dengan konsentrasi kurangan dari 20% sedangkan pada penelitian ini memperoleh konsentrasi bioetanol mencapai 42,92%. Hal ini dikarenakan kadar gula pereduksi yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dari penelitian terdahulu yakni sebesar 83,32 g/L sedangkan penelitian terdahulu hanya sebesar 32,8 g/L dan 44,97 g/L. Menurut Bria, (2023) semakin tinggi kadar gula yang dihasilkan dari proses hidroilisis mempengaruhi konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan pada proses fermentasi yang diubah menjadi bioetanol adalah gula hasil hidrolisis. Selain itu konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan

dengan penelitian terdahulu yang menggunakan bahan baku yang sama yakni biji alpukat (*Persea americana* M.) yang dilakukan oleh Muin *et al.*, (2015) dengan perolehan konsentrasi bioetanol sebesar 15,100% dan penelitian yang dilakukan oleh Putri *et al.*, (2024) memperoleh konsentrasi bioetanol sebesar 0,47%.

Selain data kuantitatif bioetanol yang diperoleh pada saat analisis menggunakan GC-FID, terdapat juga data kualitatif yang diperoleh yaitu berupa kromatogram. Data kualitatif dilihat berdasarkan waktu retensi yang muncul antara bioetanol standar dengan bioetanol sampel. Data secara kualitatif ditunjukkan pada **Gambar 5** berikut ini.



Gambar 5. Kromatogram; (A) Etanol Standar, (B) Bioetanol Sampel

Berdasarkan pada **Gambar 5**, terlihat bahwa etanol standar dan etanol sampel (bioetanol) tidak memiliki perbedaan waktu retensi yang signifikan. Waktu retensi etanol standar terdapat pada menit ke 3,213 sedangkan waktu retensi dari etanol sampel (bioetanol) terdapat pada menit ke 3,210. Hal ini menandakan bahwa sampel hasil fermentasi bubuk alpukat yang sudah dimurnikan menggunakan metode distilasi benar-benar mengandung bioetanol. Hasil analisis kromatogram juga menunjukkan adanya 3 *peak* utama yang muncul yaitu heksana, etanol (bioetanol) dan 14oluene. Urutan elusi ini dapat dijelaskan oleh perbedaan titik didih. Heksana, dengan titik didih 68,7 °C, merupakan senyawa yang paling mudah menguap sehingga keluar dari kolom terlebih dahulu. Etanol (bioetanol) dengan titik didih 78,2 °C keluar setelahnya, dan 14oluene dengan titik didih 110,6 °C merupakan senyawa yang terakhir keluar karena memiliki interaksi yang lebih kuat dengan fase diam kolom (Bria, 2023).

KESIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini yaitu waktu dan suhu terbaik yang menghasilkan kadar gula pereduksi tertinggi terdapat pada waktu pemanasan 60 menit dan suhu 250 °C. Sedangkan konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada fermentasi biji alpukat adalah 70% yang dianalisis menggunakan *hand refractometer* dan 42,92% yang dianalisis menggunakan GC-FID.

DAFTAR PUSTAKA

Al Lukman, V. F. (2019). *Pemanfaatan Limbah Biji Alpukat Sebagai Bahan Pembuatan Kue Kering*.

Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

- Ayuni, N. P. S., & Hastini, P. N. (2020). Serat Sabut Kelapa Sebagai Bahan Kajian Pembuatan Bioetanol Dengan Proses Hidrolisis Asam. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 9(2), 102–110. <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v9i2.29035>
- Batutah, M. A. (2017). Distilasi Bertingkat Bioetanol Dari Buah Maja (*Aegle Marmelos L.*). *Jurnal IPTEK*, 21(2), 9–18. <https://doi.org/10.31284/j.iptek.2017.v21i2.104>
- Bria, P. M. (2023). Pengaruh Variasi Konsentrasi Asam Terhadap Proses Hidrolisis Rumput Laut *Ulva reticulata* Dalam Produksi Bioetanol Sebagai Energi Terbarukan. In *Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu*.
- 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.
- Bria, P. M., & Kolo, S. M. D. (2024). Sintesis Bioetanol Dari Campuran Limbah Kulit Pisang Dan Sabut Pinang Sebagai Energi Terbarukan. *Jurnal Redoks*, 9(1), 55–61.
- Faricha, A., Rivai, M., & Suwito. (2014). Sistem Identifikasi Gas Menggunakan Sensor Surface Acoustic Wave dan Metoda Kromatografi. *Jurnal Teknik ITS*, 3(2), 157–162.
- Hasanah, H., Jannah, A., & Fasya, A. G. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol tape singkong (*Manihot utilissima Pohl*). *Alchemy*, 2(1), 68–79.
- Herdini, H., Rohpanae, G., & Hadi, V. (2020). Pembuatan Bioetanol Dari Kulit Petai (*Parkia Speciosa Hassk*) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam Dan Fermentasi *Saccharomyces Cerevisiae*. *TEKNOSAINS: Jurnal Sains, Teknologi Dan Informatika*, 7(2), 119–128. <https://doi.org/10.37373/tekno.v7i2.9>
- Kolo, S. D., & Sine, Y. (2019). Produksi Bioetanol dari Ampas Sorgum Lahan Kering dengan Perlakuan Awal Microwave Irradiasi. *Jurnal Saintek Lahan Kering*, 2(2), 39–40.
- 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), 1–9. <https://doi.org/10.48048/tis.2024.7484>
- Kolo, S M D, Obenu, N. M., & Rohy, 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. <https://doi.org/10.20961/alchemy.18.2.59819.183-192>
- 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. <https://doi.org/10.20961/alchemy.17.2.45476.159-167>
- Kolo, Sefrinus M. D., & Edi, E. (2018). Hidrolisis Ampas Biji Sorgum dengan Microwave untuk Produksi Gula Pereduksi sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Saintek Lahan Kering*, 1(2), 22–23. <https://doi.org/10.32938/slk.v1i2.596>
- Kolo, Sefrinus Maria Dolfi, 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. <https://doi.org/10.20961/alchemy.17.2.45476.159-167>
- Muin, R., Lestari, D., & Sari, T. W. (2015). Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol Yang Dihasilkan Dari Biji Alupukat. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(4), 1–7. <http://jtk.unsri.ac.id/index.php/jtk/article/view/190/192>

- Muin, R., Lestari, D., & Wulan Sari, T. (2014). Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Biji Alpukat. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(4), 1–6.
- Nahak, M., Kolo, S. M. D., & Bria, P. M. (2024). Potensi Biomassa Laut Asal Pulau Timor Sebagai Bahan Baku Produksi Bioetanol Untuk Mengatasi Masalah Krisis Energi Dalam Mewujudkan Sustainable Development Goals 7. *Jurnal Redoks*, 9(2), 121–128. <https://doi.org/10.31851/redoks.v9i2.15348>
- 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 H₂SO₄. *Jurna 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 Stevanny. *LCHEMY: JOURNAL OF CHEMISTRY*, 2(10), 33–40.
- Ningsih, D. R., Bintoro, V. P., & Nurwantoro, N. (2018). Analisis Total Padatan Terlarut, Kadar Alkohol, Nilai pH dan Total Asam pada Kefir Optima dengan Penambahan High Fructose Syrup (HFS). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(2), 84–89. <https://doi.org/10.14710/jtp.2018.20602>
- Pratama, A. R., Ariyanto, E., & Mardwita, M. (2021). Pengaruh Volume Solvent dan Berat Biji Alpukat (*Persea Americana Mill.*) Terhadap Yield dan Karakteristik Hasil Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 5(2), 115–127.
- Putri, Z. S., Ruyani, A., Uliyandari, M., Wardana, R. W., & Sukarso, A. A. (2024). Pengaruh Penambahan Nutrient (NPK dan Pupuk Urea) Terhadap Bioethanol Hasil Fermentasi Biji Alpukat (*Persea americana Mill.*). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 662–670.
- Ramadhani, R. T., Arrachmah, N., & Suprianti, L. (2020). Proses pembuatan bioetanol dari buah naga merah. *Journal of Chemical and Process Engineering*, 01(02), 53–57.
- Sari, F. I. P., Wibowo, B. S., & Irwanto, R. (2020). Pengaruh Jumlah Ragi Pada Pembuatan Bioetanol dari Campuran Buah Kersen dan Kulit Nanas. *Proceeding Colloquium Research and Community*, 4, 129–142.
- Sasongko, A., Lumbantobing, D. F. H., & Rifani, A. (2019). Pemanfaatan Limbah Kulit Singkong untuk Produksi Oligosakarida melalui Hidrolisis Kimiawi. *JST (Jurnal Sains Terapan)*, 5(1). <https://doi.org/10.32487/jst.v5i1.586>
- Sri, K. B., Fatima, M. S., Nandhini, M., & Sumakanth, M. (2023). UV-visible spectrophotometry and titrimetric method for determining Reducing Sugars in different brands of honey and soft drinks. *Magna Scientia Advanced Research and Reviews*, 7(2), 62–67. <https://doi.org/10.30574/msarr.2023.7.2.0037>
- Sriana, T., Dianpalupidewi, T., Ukhravi, S. M. P., & Nata, I. F. (2021). Pengaruh Konsentrasi Sodium Hydroxide (NaOH) pada Proses Delignifikasi Kandungan Lignoselulosa Serat (Fiber) Siwalan (*borassus flabellifer*) sebagai Bahan Dasar Pembuatan Bioethanol. *Buletin Profesi Insinyur*, 4(2), 49–52. <https://doi.org/10.20527/bpi.v4i2.105>
- Tambunan, M. P. M., Ginting, Z., & Nurlaila, R. (2021). Pengaruh Suhu Dan Waktu Hidrolisis Terhadap Kadar Glukosa Dalam Pembuatan Sirup Glukosa Dari Biji Alpukat Dengan Metode Hidrolisis Asam. *Chemical Engineering Journal Storage*, 3(1), 17–26.
- Wardani, A. K. (2018). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi pada Pembuatan Bioetanol dari *Sargassum sp* Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Fermentasi Menggunakan Mikroba Asosiasi

(*Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae* dalam Ragi Tape dan Ragi Roti). In *Skripsi, Jurusan Pendidikan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta*.

Wulandari, R. (2017). Pengaruh Suhu, pH, Waktu Hidrolisis, Dan Konsentrasi H₂SO₄ Terhadap Kadar Glukosa Yang Dihasilkan Dari Limbah Kulit Kakao. *Skripsi, Program Studi Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta*, 1–11.

Wusnah, W., Bahri, S., & Hartono, D. (2019). Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* B.C) secara Fermentasi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 8(1), 48. <https://doi.org/10.29103/jtku.v8i1.1915>