

Pengaruh Jenis Ragi dalam Produksi Bioetanol Sebagai Energi Terbarukan dari *Ulva Reticulata*

Diterima 17 September 2024,
Disetujui 15 Januari 2025
Dipublikasikan 15 September 2024

DOI: 10.32938/jcsa.v2i2.7975

Natalia Krisanti Naiobe^{a,*}, Sefrinus Maria Dolfi Kolo^a, Janrigo Klaumegio Mere^a

Abstrak

Sumber energi yang paling banyak digunakan saat ini adalah energi fosil. Fakta menunjukkan bahwa ketersediaan energi fosil semakin hari semakin menipis. Solusi untuk mengatasi masalah ini adalah dengan memanfaatkan bioetanol sebagai alternatif sumber energi baru dan terbarukan. Bioetanol pada dasarnya adalah etanol yang dibuat dari biomassa (tanaman) melalui proses biologis (enzimatik atau fermentasi). Salah satu biomassa atau tanaman yang dapat dijadikan sebagai bioetanol yaitu makroaga *Ulva reticulata* karena memiliki kandungan karbohidrat yang cukup besar yaitu sebanyak 52,4%. Pada penelitian ini, makroalga *Ulva reticulata* dihidrolisis menggunakan *microwave* pada suhu 150 °C selama 50 menit menggunakan katalis HCl 1%, dilanjutkan dengan fermentasi selama 7 hari. Selanjutnya, dilakukan destilasi menggunakan destilasi bertingkat. Kadar gula pereduksi pada hidrolisat dianalisis dengan metode DNS menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Etanol hasil destilasi dianalisis secara kualitatif menggunakan larutan kalium dikromat dan analisis kuantitatif menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Hasil pada penelitian ini diperoleh kadar gula pereduksi sebesar 101,04 g/L pada waktu optimum 50 menit. Hasil uji kualitatif dengan kalium dikromat menunjukkan adanya etanol pada sampel ditandai dengan perubahan warna dari jingga menjadi biru. Hasil uji kuantitatif menggunakan *Gas chromatography* (GC) pada sampel makroalga *Ulva reticulata* diperoleh kadar etanol sebesar 24,58%.

Kata Kunci: *Ulva reticulata*, *Microwave*, *Fermentasi*, *Destilasi*, *Bioetanol*

1. Pendahuluan

Sebagian besar kebutuhan energi di Indonesia saat ini semakin meningkat dari tahun ke tahun seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk di Indonesia dan meningkatnya pertumbuhan ekonomi sehingga dapat menyebabkan berkurangnya bahan bakar fosil.¹

Bioetanol merupakan salah satu bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan karena terbuat dari bahan yang mengandung selulosa seperti jagung, sorgum dan umbi-umbian. Bioetanol dihasilkan melalui proses fermentasi gula dari sumber karbohidrat dengan bantuan mikroorganisme. Rumput laut merupakan organisme laut yang tergolong dalam kelompok alga besar. Namun tidak memiliki struktur tubuh yang kompleks seperti tumbuhan darat, melainkan terdiri dari talus yang tidak terdiferensiasi menjadi akar, batang, atau daun. Habitat alaminya adalah perairan laut, dimana rumput laut menempel pada berbagai substrat seperti batu, pasir, atau bahkan organisme lain dan sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan baku dalam proses pembuatan bioetanol.² Salah satu jenis rumput laut yang dapat dikonversi menjadi bioetanol yaitu Makroalga *Ulva reticulata*. Berdasarkan komposisi kimianya makroalga *Ulva reticulata* diketahui mengandung karbohidrat yang cukup tinggi dengan komposisinya 52,4% dan komposisi kimia lainnya yaitu air (27,8%), protein (5,4%), lemak (8,6%), serat kasar (3%) dan abu (22,25%).¹ Pilihan untuk menjadikan makroalga *Ulva reticulata* sebagai sumber bahan baku pembuatan bioetanol adalah keputusan yang tepat karena

rumput laut *Ulva reticulata* sangat berlimpah di Nusa Tenggara Timur (NTT) namun tidak dikonsumsi oleh masyarakat setempat karena kurangnya pengetahuan dan dianggap sebagai sampah yang merusak estetika pantai, sehingga makroalga *Ulva reticulata* sangat ideal untuk dijadikan sebagai sumber energi baru terbarukan.¹

Penelitian mengenai pemanfaatan *Ulva reticulata* dalam produksi bioetanol pertama kali diteliti oleh ((Kolo dkk., 2021a) dengan menggunakan sampel *Ulva reticulata* diperoleh hasil gula pereduksi sebesar 33,4 g/L dan bioetanol sebesar 5,02%. Penelitian kedua dilakukan oleh Kolo pada tahun 2022 dengan menggunakan metode pretreatment dan masih dengan sampe I yang sama diperoleh kadar gula sebesar 27,29 g/L dan bioetanol sebesar 7,76%.¹ Kemudian dilanjutkan lagi oleh Kolo pada tahun 2023 masih menggunakan sampel yang sama yaitu *Ulva reticulata* memperoleh kadar gula pereduksi optimum pada konsentrasi asam nitrat 7%, waktu hidrolisis 50 menit, suhu 150 °C dan daya 250 watt yaitu sebesar 83,3 g/L dan kadar etanol sebesar 37,2%.¹ Adapun penelitian menurut Maharani menggunakan limbah biji durian sebagai sampel produksi bioetanol dengan variasi dua jenis ragi yaitu ragi tape dan ragi roti instan, dimana dalam penelitian ini ragi tape yang menghasilkan kadar bioetanol lebih tinggi sebesar 16,829% dibandingkan dengan ragi roti. Keunggulan dari ragi tape yaitu digunakan untuk meningkatkan hasil produksi bioetanol.³

Berdasarkan uraian diatas terdapat tiga penelitian menggunakan sampel yang sama yaitu *Ulva reticulata* dan satu penelitian menggunakan sampel yang berbeda yaitu limbah biji durian dalam produksi bioetanol dengan variasi dua jenis ragi. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan menggunakan 3

^aProgram Studi Kimia, Universitas Timor, Kefamenanu 85613, Indonesia. Email: nataliatrisantinaiobe@gmail.com

jenis ragi untuk dapat membandingkan ke 3 jenis ragi tersebut manakah yang dapat menghasilkan kadar bioetanol lebih tinggi.

2. Eksperimen

2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah: *Ulva reticulata*, HCl 1%, tissue, aquades, aluminium foil, asam dinitrosanisilat (ANS), ragi roti, ragi tape dan ragi tempe, NaOH 2%, 10 g/L glukosa, 0,1 g/L ekstrak ragi, 0,1306 g/L KH₂PO₄, 0,1502 g/L MgSO₄.7H₂O, 1,2021 g/L (NH₄)₂SO₄.

2.2 Preparasi rumpu laut *Ulva reticulata*

Preparasi *Ulva reticulata* terdiri dari dua langkah yaitu pengeringan dan penggilingan, kemudian disaring menggunakan ayakan 35 mesh sehingga diperoleh bubuk *Ulva reticulata*.¹

2.3 Hidrolisis

Pada proses hidrolisis ini akan diukur bubuk *Ulva reticulata* sebanyak 10 gr kemudian ditambahkan larutan HCl 1% sebanyak 300 mL kedalam labu erlenmeyer ukuran 500 mL yang sudah terisi bubuk *Ulva reticulata* lalu ditutup mulut erlenmeyer menggunakan aluminium foil dan dipanaskan menggunakan microwave pada suhu 150 °C selama 60 menit. Hasil hidrolisat yang sudah diperoleh selanjutnya didinginkan pada suhu ruangan, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hidrolisat selanjutnya akan dilakukan uji kadar gula pereduksi menggunakan spekrofotometer UV-Vis dan sebagai medium fermentasi.

2.4 Fermentasi

Pada proses ini hidrolisat yang sudah diperoleh dari proses hidrolisis selanjutnya akan diatur pH menjadi 4,5 menggunakan larutan NaOH 2%. Media fermentasi dibuat dengan mencampurkan 300 mL Hidrolisat pada erlenmeyer 500 mL yang sudah diatur pH menjadi 4,5 menggunakan NaOH 2%. Ditambahkan 10 g/L glukosa, 0,1 g/L ekstrak ragi, 0,1306 g/L KH₂PO₄, 0,1502 g/L MgSO₄.7H₂O, 1,2021 g/L (NH₄)₂SO₄ dalam erlenmeyer dan disteril menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit lalu didinginkan.

2.5 Proses produksi bioetanol

Media fermentasi yang sudah disterilisasi dan didinginkan selanjutnya ditambahkan ragi tempe, ragi roti, dan ragi tape pada masing-masing erlenmeyer lalu ditutup mulut erlenmeyer dengan aluminium foil dan plastik *wrapping*. Kemudian dishaker dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari.⁵

2.6 Destilasi

Setelah fermentasi selama 7 hari, hasil fermentasi disaring menggunakan kertas saring. Filtrat kemudian dimasukkan ke dalam labu distilasi dan dipasangkan dengan rangkaian alat distilasi bertingkat yang telah dirancang. Proses distilasi dilakukan dengan distilasi bertingkat pada suhu 75°C - 80°C selama 1-2 jam hingga tidak ada lagi tetesan etanol. Kadar etanol hasil distilasi kemudian diuji menggunakan GC.⁴

2.7 Analisis Gula Pereduksi

Kadar gula pereduksi dapat diukur dengan menggunakan metode asam 3,5-dinitrosanisilat (DNS) dan spekrofotometer UV-VIS. Metode ini didasarkan pada reaksi antara gula

pereduksi dan reagen DNS.⁶ Langkah-langkah analisis gula pereduksi dan metode DNS yaitu sebagai berikut:

1. Dibuat larutan glukosa standar dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 400, 600 dan 800 ppm.
2. Masing-masing larutan diambil 1 mL, kemudian ditambahkan 5 mL pereaksi DNS
3. Kemudian masing-masing larutan dihomogenkan dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit.
4. Setelah larutan dingin masing-masing larutan diencerkan 5x dan dihomogenkan kembali.
5. Absorbansi suatu sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Hasil pengukuran tersebut kemudian digunakan untuk membuat persamaan linear yang menggambarkan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi sampel.
6. Pengukuran kadar gula pereduksi pada sampel dilakukan dengan mengambil 1 mL sampel dan menambahkan pereaksi DNS sebanyak 5 mL.

2.8 Analisis Kualitatif Etanol

Diambil kalium dikromat 2% sebanyak 2 mL, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2 mL. Kemudian, ditambahkan 5 tetes H₂SO₄ dan 1 mL sampel etanol hasil distilasi. Selanjutnya, larutan digojok dan didiamkan hingga warnanya berubah dari oranye menjadi hijau kebiruan.⁷

2.9 Analisis Kuantitatif Etanol

Analisis kadar etanol menggunakan GC dilakukan dengan menentukan beberapa karakteristik metode seperti linieritas, batas deteksi, ketelitian dan ketepatan. Uji linieritas dilakukan dengan mengukur rasio luas area etanol terhadap n-butanol pada suatu seri larutan standar etanol dengan konsentrasi 1, 2, 5, 8 dan 10 % (V/V). Masing-masing larutan sebanyak 0,5-1 µL diinjeksikan ke dalam GC dan dilakukan penentuan luas puncak etanol dan n-butanol. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Preparasi sampel *Ulva reticulata*

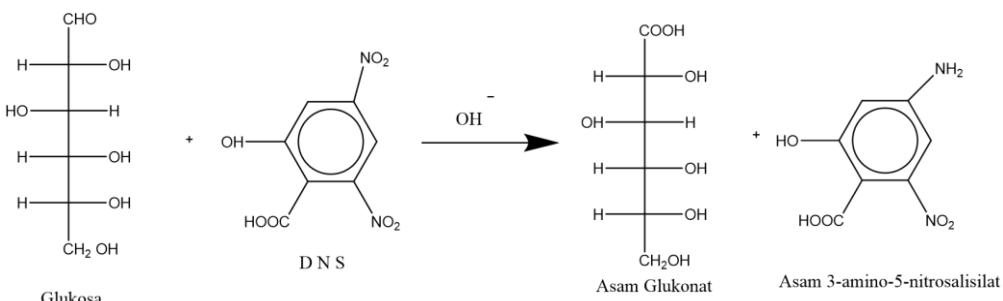
Pada proses penelitian ini hal pertama yang dilakukan adalah pengambilan sampel *Ulva reticulata* dipesisir pantai Bolok Kupang Nusa Tenggara Timur (NTT). Sampel yang telah diambil dipreparasi dengan cara dicuci bersih dan dikering anginkan ±3 hari. Tujuan dilakukan pencucian adalah untuk



Gambar 1. Foto sampel *Ulva reticulata*; (a) sebelum dihaluskan, (b) setelah dihaluskan.



Gambar 3. Hasil hidrolisis; (a) sebelum disaring, (b) setelah disaring.



Gambar 2. Mekanisme Reaksi DNS menjadi 3-amino, 5 asam nitrosalisilat.

memisahkan zat pengotor yang masih melekat pada sampel *Ulva reticulata*. Sedangkan tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air sehingga kualitas sampel tetap terjaga. Sampel yang sudah bersih dan kering kemudian diblender dan diayak menggunakan ayakan yang berukuran 35 mesh yang bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel dan memperbesar luas permukaan sampel. *Ulva reticulata* sebelum dan sesudah proses preparasi dapat dilihat **Gambar 1**.

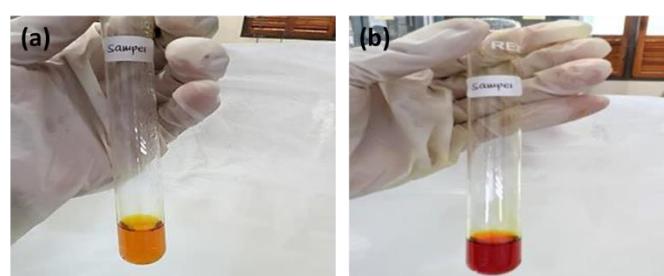
3.2 Hidrolisis dan Analisis Gula Pereduksi Menggunakan Metode Dinitrosalicyle Acid (DNS)

Bubuk *Ulva reticulata* yang telah diperoleh selanjutnya dihidrolisis dengan menggunakan pelarut HCl 1% didalam microwave selama 50 menit pada suhu 150 °C. Tujuan dilakukan hidrolisis adalah untuk memutuskan ikatan glikosidik pada selulosa sehingga diperoleh gula (glukosa) yang lebih sederhana. Pemilihan pelarut HCl dalam proses hidrolisis ini adalah karena bersifat monoprotik dimana proses pelepasan proton (H⁺) berlangsung dalam satu tahap dan lebih cepat dibandingkan dengan reaksi asam kuat lainnya misalnya H₂SO₄. Keunggulan lain dari HCl yaitu merupakan asam kuat yang relatif aman karena pada Proses netralisasinya dengan NaOH akan menghasilkan NaCl (garam dapur) yang relatif tidak berbahaya. Berbeda dengan asam nitrat (HNO₃) yang menghasilkan gas NO₂ beracun. Hasil hidrolisis *Ulva reticulata* secara keseluruhan dapat dilihat pada **Gambar 3**.

Berdasarkan hasil hidrolisis pada **Gambar 3**, tampak bahwa hidrolisis yang diperoleh berwarna coklat pekat (gambar 14a). Sebelum disaring, dan setelah disaring (gambar 14b) terlihat bahwa hidrolisat berwarna coklat terang. Hidrolisat yang telah disaring kemudian dianalisis kadar gula pereduksinya menggunakan metode DNS secara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm. DNS merupakan senyawa aromatik yang akan bereaksi dengan gula pereduksi untuk membentuk 3-amino-5-nitrosalicyle dan senyawa ini memiliki kemampuan kuat untuk menyerap radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang 540 nm. Mekanisme reaksi DNS dapat dilihat pada **Gambar 2**.⁸

Prinsip pengujian kadar gula pereduksi dengan metode DNS adalah pembentukan asam 3-amino,5-nitrosalisilat melalui reaksi redoks antara glukosa dan DNS. Metode DNS dipilih untuk analisis kadar gula pereduksi dikarenakan akurasinya lebih tinggi dimana metode DNS mampu mengukur gula pereduksi dalam konsentrasi kecil dan lebih tepat dibandingkan metode lain, serta kemudahan dan kepraktisan pembuatan reagen DNS-nya dibandingkan dengan metode lain seperti Nelson-Somogyi (NS).⁹ Sri menyatakan bahwa DNS memiliki zat aromatik yang disebut asam 3,5-dinitrosalisilat yang berinteraksi dengan gula pereduksi akan menghasilkan 3-amino,5-dinitrosalisilat yang ditandai dengan adanya perubahan warna yaitu dari warna kuning menjadi warna merah bata. Hasil uji gula pereduksi dan DNS dapat dilihat pada **Gambar 4**.

Berdasarkan **Gambar 4**, dapat dilihat bahwa hidrolisat *Ulva reticulata* mengalami reaksi redoks dan ketika ditambahkan DNS ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi merah bata hal ini sesuai teori dimana *Ulva reticulata* mengandung glukosa. Glukosa yang telah direduksi dengan DNS, selanjutnya dianalisis secara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm. Data hasil analisis selanjutnya digunakan untuk menentukan kadar gula pereduksi menggunakan kurva standar glukosa. Berdasarkan hasil perhitungan kadar gula pereduksi, diperoleh data pada **Tabel 1**.



Gambar 4. Hidrolisat; (a) sebelum ditambahkan DNS, (b) sesudah ditambahkan DNS.

Tabel 1. Data gula pereduksi

Konsentrasi HCl (%)	Waktu Hidrolisis (Menit)	Suhu Hidrolisis (°C)	Kadar Gula Pereduksi (g/L)
1	50	150	101

Berdasarkan hasil perhitungan kadar gula pereduksi **Tabel 1**, dapat dilihat bahwa proses hidrolisis *Ulva reticulata* dihasilkan kadar gula pereduksi sebesar 101 g/L. Hasil hidrolisis *Ulva reticulata* pada penelitian ini mendapatkan kadar gula pereduksi yang cukup tinggi diperoleh melalui proses hidrolisis dengan menggunakan *microwave* yaitu sebesar 101% dengan menggunakan konsentrasi HCl 1% dalam waktu hidrolisis 50 menit, dan suhu hidrolisis 150°C merupakan suatu keadaan yang optimum dalam proses hidrolisis. Hasil kadar gula pada penelitian ini ternyata mendapatkan kadar gula yang cukup tinggi. Hidrolisis dengan menggunakan *microwave* dapat mempercepat reaksi hidrolisis asam encer dan bisa mengubah pati dalam biomassa menjadi gula secara cepat dan efisien.⁶ Proses ini lebih cepat dan hemat energi dibandingkan cara konvensional.

3.3 Fermentasi dan Destilasi

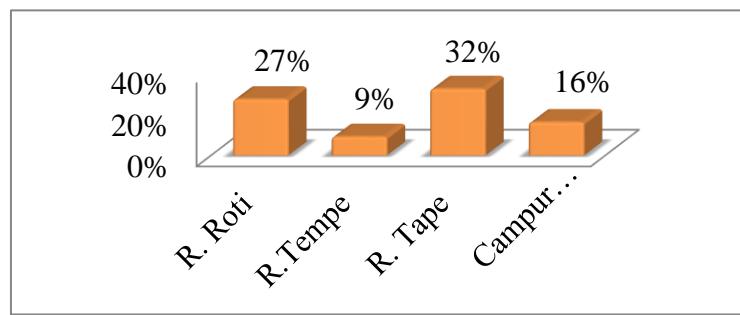
Fermentasi pada penelitian ini merupakan lanjutan dari tahap hidrolisis untuk menghasilkan bioetanol. Fermentasi dilakukan menggunakan tiga jenis ragi secara terpisah dan penggabungan dari ketiga jenis ragi. Ragi-ragi yang digunakan dalam fermentasi ini antara lain ragi roti, ragi tape dan ragi tempe. Alasan menggunakan ketiga jenis ragi tersebut adalah untuk membandingkan efektifitas dari masing-masing ragi dalam produksi bioetanol. Sebelum dilakukan fermentasi, mulai mula hidrolisat hasil hidrolisis diatur pH-nya. Larutan NaOH 2% ditambahkan secara perlahan ke dalam hidrolisat, hingga pH hidrolisat menjadi pH 4,5. Menurut Anggaraini, pH optimum pertumbuhan ragi adalah 4,5.¹⁰ pH di bawah 4,5 dapat menyebabkan pertumbuhan ragi menjadi kurang maksimal sehingga proses fermentasi kemungkinan dapat berjalan lebih lambat.

Hidrolisat yang telah diatur pH-nya, selanjutnya ditambahkan inokulum dengan persentase masing-masing ragi 30%. Hasil fermentasi selama 7 hari menghasilkan bioetanol dengan persentasi yang cukup tinggi yaitu 9% kadar bioetanol yang diperoleh diukur menggunakan *refractometer* setelah dilakukan pemurnian menggunakan alat distilasi bertingkat pada suhu 75 °C-80 °C. Data hasil pengukuran *refractometer* bioetanol ditampilkan pada **Gambar 5**.

Data pada **Gambar 5** menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi terukur dari bioetanol yang dihasilkan. Ragi tape menghasilkan kadar bioetanol 32%, ragi roti 27%, ragi tempe 9 % sedangkan campuran dari ketiganya adalah 16 %. Perbedaan konsentrasi bioetanol terukur dari ketiga jenis ragi diduga kuat disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor yang pertama adalah komposisi penyusun ragi, kemudian yang kedua adalah jalur metabolisme utama dari masing-masing ragi, dan yang terakhir adalah persaingan antar ragi dalam memecah substrat selama proses fermentasi.

Ragi tape merupakan jenis ragi yang sering digunakan dalam proses fermentasi tape. Ragi tape umumnya mengandung *Saccharomyces cereviceae* yang didalamnya juga terdapat campuran beberapa mikroba jenis lain seperti *Rhizopus oryzae* dan juga *Lactobacillus*. Kehadiran mikroba lain dalam tape secara tidak langsung berpengaruh terhadap produk akhir fermentasi melalui sinergisitas mikroba. Perombakan glukosa menjadi etanol bukanlah jalur metabolisme utama dari *Saccharomyces cereviceae*. Alkohol dehidrogenase memainkan peranan penting dalam tahap akhir perombakan asetaldehid menjadi etanol. Tingginya kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi ragi tape, diduga disebabkan oleh adanya over ekspresi dari alkohol dehidrogenase. Asam laktat dapat menjadi salah satu faktor pemicu over ekspresi alkohol dehidrogenase. Asam laktat sebagai produk akhir dari *Lactobacillus* secara anaerob dapat menurunkan pH medium sehingga sebagai respon terhadap peningkatan konsentrasi asetaldehid dan keseimbangan redoks seluler, produksi alkohol dehidrogenase ditingkatkan. Hal ini mendorong produksi etanol jauh lebih cepat dan lebih banyak dibandingkan dengan ragi roti maupun ragi tempe.

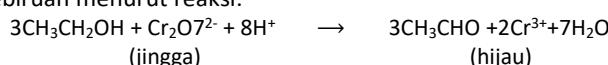
Selain over ekspresi alkohol dehidrogenase, strain ragi dalam fermentasi juga diduga turut berpengaruh terhadap efektifitas produksi etanol. Ragi tape dapat dianggap lebih unggul dalam produksi etanol dibandingkan kedua jenis ragi lainnya karena mampu bertahan terhadap perubahan pH lingkungan. *Rhizopus oryzae* adalah jenis ragi yang sering digunakan dalam fermentasi tempe. Meskipun memiliki kemampuan untuk melakukan fermentasi, etanol bukanlah produk utama dari jalur metabolisme ragi ini. Asam-asam organik seperti asam laktat, asam suksinat dan asam fumarat merupakan produk utama dari ragi ini. Sehingga kadar etanol yang rendah dari fermentasi ragi ini dapat menerangkan dengan baik efektifitas dari jenis ragi ini dalam produksi bioetanol *Ulva reticulata* dibandingkan kedua jenis ragi lainnya.

**Gambar 5.** Kadar bioetanol *Ulva reticulata*.

3.4 Analisis Kualitatif Menggunakan Kalium Dikromat ($K_2Cr_2O_7$)

Analisis kualitatif etanol hasil distilasi dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan etanol sebagai produk akhir fermentasi anaerob yang dimurnikan. Analisis kualitatif etanol dilakukan dengan mereaksikan hasil distilat dengan kalium

dikromat ($K_2Cr_2O_7$). Adanya etanol dalam sampel uji akan menunjukkan perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan menurut reaksi:¹¹



Tabel 2. Hasil Analisis Kualitatif Etanol Menggunakan Reaksi Kalium Dikromat (Dok Pribadi)

Sampel	Hasil uji	Perubahan warna hasil uji etanol
Etanol murni	Positif (+)	
Etanol sampel rumput laut <i>Ulva reticulata</i>	Positif (+)	

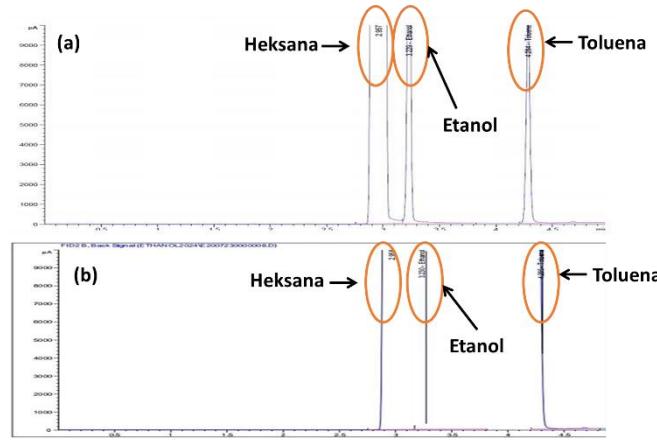
Berdasarkan data pada **Tabel 2**, dapat dilihat bahwa hasil reaksi dari $K_2Cr_2O_7$ dengan distilat uji menunjukkan adanya perubahan warna dari jingga menjadi biru. Sama halnya dengan etanol standar, dimana tidak terdapat perbedaan warna yang signifikan dari hasil uji terhadap distilat *Ulva reticulata*. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa distilat *Ulva reticulata* positif mengandung etanol.

3.5 Hasil Analisis Kadar Etanol Menggunakan GC

Analisis kuantitatif etanol rumput laut *Ulva reticulata* dilakukan menggunakan instrumen *Gas chromatography* (GC). Tujuan menggunakan GC yaitu untuk mengetahui apakah sampel kita benar-benar ada tidak etanol-nya. Analisis kuantitatif etanol menggunakan metode GC karena etanol merupakan senyawa yang bersifat volatil dan dapat diidentifikasi dengan mudah dan metode *kromatografi gas* didapatkan dengan membandingkan etanol standar dan

dari GC yaitu saat sampel cair diinjeksikan, pelarut langsung menguap dan tercampur dengan gas pembawa yang bersifat inert. Campuran gas ini kemudian memasuki kolom yang berisi fase diam (silika). Didalam kolom, terjadi interaksi antara komponen-komponen gas dengan fase diam (silika), yang menyebabkan pemisahan berdasarkan perbedaan titik didih dan polaritas. Komponen yang lebih mudah menguap atau kurang berinteraksi dengan fase diam akan keluar dari kolom lebih cepat. Komponen-komponen yang telah terpisah kemudian melewati detektor yang menghasilkan sinyal listrik. Sinyal ini kemudian direkam dan diubah menjadi kromatogram. Luas puncak kromatogram etanol berbanding lurus dengan konsentrasi etanol dalam sampel.¹² Analisis dengan GC juga diperlukan senyawa tambahan yang berperan sebagai senyawa standar. Senyawa standar yang digunakan yaitu toluena. Kenapa toluena, alasannya karena toluena tidak bersifat reaktif dengan etanol maupun fase gerak (helium) dan memiliki sifat yang hampir sama dengan etanol. Pelarut yang digunakan adalah heksana, karena heksana merupakan senyawa non polar sedangkan etanol dan toluena merupakan senyawa polar, sehingga tidak dapat bereaksi dengan fase diam (silika).¹ Kromatogram hasil analisis kuantitatif etanol standar dan etanol sampel pada sampel rumput laut *Ulva reticulata* dapat dilihat pada **Gambar 6**.

Berdasarkan hasil uji GC pada **Gambar 6**, terdapat dua kromatogram yang diperoleh yaitu kromatogram etanol standar dan kromatogram etanol sampel. Pada kromatogram Gambar (a) etanol standar dan kromatogram (b) etanol sampel terdapat tiga senyawa yang muncul dan memiliki waktu retensi yang tidak berbeda jauh yaitu waktu retensi pada etanol standar 3,229 menit sedangkan waktu retensi pada etanol sampel 3,230 menit. Hal ini menunjukkan bahwa sampel



Gambar 6. Kromatogram; (a) etanol standar, (b) etanol sampel.

toluena yang digunakan sebagai standar internal. Prinsip kerja

makroalga *Ulva reticulata* benar-benar mengandung etanol dengan perbedaan waktu retensi-nya yang sangat signifikan. Sedangkan pada toluena etanol standar muncul pada waktu retensi 4,284 menit dan etanol sampel muncul pada waktu retensi 4,285 menit merupakan standar internal dalam melakukan analisis GC (*Gas chromatography*). Hasil dari kedua kromatogram tersebut dapat disimpulkan bahwa sampel *Ulva reticulata* hasil fermentasi dan destilasi benar-benar mengandung etanol karena memiliki waktu retensi antara etanol standar dan etanol sampel hampir sama atau signifikan. Hasil etanol yang telah didapatkan dari kromatogram akan digunakan untuk menghitung kadar etano-nya dengan cara membandingkan luas area dari puncak etanol sampel dengan luas area dengan puncak etanol standar yang kemudian akan dikalikan dengan konsentrasi etanol standar.¹

4. Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa waktu hidrolisis optimum menggunakan *microwave* adalah 50 menit pada suhu 150 °C, dengan kadar gula pereduksi yang diperoleh sebanyak 101,04 g/L. Jenis ragi sangat berpengaruh terhadap kadar etanol selama proses fermentasi. Jenis ragi yang paling dominan untuk proses feremntasi bioetaol menggunakan sampel *Ulva reticulata* yaitu jenis ragi tape dan ragi tempe dengan memperoleh kadar etanol dengan lamanya proses fermentasi selama 7 hari yaitu sebanyak 15% pada ragi tape dan 13% pada ragi tempe. Hal ini menunjukan bahwa pada proses fermentasi selama 7 hari ragi tape dan ragi tempe dapat bekerja dengan baik. Kadar etanol pada sampel Makroalga *Ulva reticulata* dengan perlakuan awal menggunakan *microwave* yang kemudian dianalisis menggunakan *Gas chromatography* (GC) dengan memperoleh kadar etanol sebesar 24,58%.

Konflik Kepentingan

Semua penulis mengkonfirmasi bahwa tidak terdapat konflik kepentingan pada artikel ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu hingga terlaksananya penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Kolo, S. M. D., Obenu, N. M., dan Tuas, M. Y. C. (2022). *Jurnal Kimia*, **21**.
2. Nadhif, H. (2021). Pengaruh Konsentrasi Acetobacter aceti dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Asam Asetat Dari Rumput Laut *Gracilaria* sp (Doctoral dissertation, UIN Ar-Raniry).
3. Maharani, M. M., Bakrie, M., & Nurlela, N. (2021). *Jurnal Redoks*, **6**(1), 57-65.
4. Kolo, S. M. D., Presson, J., dan Amfotis, P. (2021). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, **17**(2), 159.

5. Kolo, S. M. D., Pardosi, L., & Baru, A. E. (2022). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, **16**(1), 28.
6. Kolo, S. M., dan Edi, E. (2018). *Jurnal Saintek Lahan Kering*, **1**(2), 22-23.
7. Kolo, S. M. D., Obenu, N. M., Kefi, L., & Fuel, F. F. (2023). *Jurnal Riset Kimia*, **14**(1), 12–23.
8. Baru, A. E. (2022). Pengaruh Waktu Hidrolisis Menggunakan Microwave Terhadap Produksi Bioetanol Dari Ampas Sorgum (*Sorghum Bicolor* L.). Dalam Skripsi, Program Studi Kimia universitas Timor. Universitas Timor.
9. Bria, P. M., & Kolo, S. M. D. (2024). *Jurnal Redoks*, **9**(1), 55-61.
10. Anggraini, S. P. A., Yuniningsih, S., & Sota, M. M. (2017). *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, **2**(2), 98-105.
11. Kolo, S. M. D., Presson, J., & Amfotis, P. (2021). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, **17**(2), 159-167.
12. Hermanto, D. (2020). *Chempublish Journal*, **5**(2), 105-115.