



Analisis Senyawa Organik Volatil (Aseton dan Etanol) sebagai Hasil Fermentasi Limbah Biomassa dengan Kromatografi Gas

Gladys Sukma Thufailah^{1*}, Ferry Rayyan Firmansyah², M. Ardel Mahendra¹,
Nadira Ammara Fahema¹

¹Teknik Kimia Industri, Fakultas Vokasi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Jl. Teknik Kimia, Keputih, Kec. Sukolilo, Surabaya, Jawa Timur 60111

²Teknik Sistem Perkapalan, Fakultas Teknologi Kelautan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Jl. Teknik Kimia, Keputih, Kec. Sukolilo, Surabaya, Jawa Timur 60111

*Alamat email penulis koresponden: 2041221035@student.its.ac.id

Abstrak

Dalam rangka mengurangi dampak negatif yang disebabkan oleh penggunaan bahan bakar fosil terhadap pembangunan manusia, penting untuk mencari bahan kimia alternatif untuk berbagai produk yang saat ini bergantung pada bahan bakar fosil. Para peneliti telah fokus pada pengembangan produksi bahan kimia dari limbah biomassa yang tersedia dan terjangkau. Salah satu pendekatan yang telah dipelajari adalah fermentasi untuk menghasilkan aseton dan etanol. Namun, produk yang dihasilkan melalui proses fermentasi memiliki tingkat kemurnian yang rendah. Oleh karena itu, diperlukan proses pemisahan untuk mendapatkan produk dengan kemurnian tinggi. Dalam proses ini, diperlukan metode untuk mengukur kadar produk fermentasi, seperti kromatografi gas. Oleh karena itu, tujuan dari eksperimen ini adalah untuk menentukan prosedur analisis suatu analit menggunakan kromatografi gas. Hasil analisis menunjukkan waktu retensi yang dibutuhkan untuk mengidentifikasi aseton adalah 1,2 menit, sedangkan untuk etanol sebesar 1,06 min. Selain itu, nilai regresi yang didapat adalah sebesar $y = 137414x - 3212$, dengan $R^2 = 0.9932$ untuk aseton dan $y = 83921x - 4230.4$, dengan $R^2 = 0.9777$ untuk etanol yang mengindikasikan bahwa metode ini sensitif, andal, dan cepat untuk identifikasi senyawa pada proses fermentasi.

Kata kunci: fermentasi, kromatografi gas, waktu retensi

PENDAHULUAN

Aseton atau etanol adalah dua senyawa kimia yang sering digunakan dalam berbagai aplikasi industri dan laboratorium. Dua senyawa ini memiliki sifat yang berbeda-beda dan akan membentuk campuran juga dicampur bersama. Aseton (CH_3COCH_3) adalah senyawa yang mudah menguap, berbau tajam, dan memiliki titik didih yang relatif rendah. Aseton banyak digunakan sebagai pelarut dalam industri seperti dalam produksi cat, plastik, dan serat sintesis (Kalapos, 2014). Sedangkan etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) adalah senyawa organik yang sering dikenal sebagai alkohol dengan karakteristik yang mudah terbakar dan memiliki bau yang khas (Mendiburu *et al.*, 2022). Ketika aseton dan etanol dicampur bersama, maka akan terbentuk campuran yang homogen. Sehingga menjadikan hal tersebut tantangan tersendiri bagi peneliti terdahulu untuk melakukan proses pemisahan yang efisien. Salah satu metode yang sering digunakan untuk memisahkan aseton dari etanol adalah ekstraksi gas-cair karena memiliki beberapa kelebihan, seperti pengoperasiannya yang mudah, efisiensi yang tinggi, konsumsi energi, dan biaya yang rendah (Aquilon *et al.*, 2023).

Dalam prosesnya, diperlukan informasi terkait konsentrasi produk fermentasi yang dihasilkan untuk dapat diaplikasikan secara luas dan optimal. *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang sederhana dan cepat baru-baru ini diadopsi di banyak laboratorium dan sebagian besar penelitian untuk analisis kuantitatif senyawa organik. Namun, ketika detektor *refractive index* (RI) atau *evaporate light scattering* (ELS) digunakan, sensitivitas dan resolusinya rendah yang mana akan menghambat analisis sampel pada konsentrasi rendah (Seo *et al.*, 2024). Sehingga dibutuhkan metode yang lebih ekonomis dan akurat dengan menggunakan instrumen universal.

Metode yang digunakan adalah *gas chromatography* (GC), yang memberikan sensitivitas dan resolusi yang lebih tinggi dalam analisis senyawa organik. Dalam GC, sampel diuapkan dan dipisahkan dalam kolom berdasarkan perbedaan afinitas komponen terhadap fase stasioner dan fase gerak. *Gas chromatography* (GC/MS) akan dilengkapi dengan kolom kapiler umumnya digunakan untuk menganalisis senyawa organik yang mudah menguap. Faktanya, dalam kasus analisis GC yang dilengkapi dengan *flame ionization detector* (FID) memiliki sensitivitas detektor lebih tinggi daripada analisis HPLC yang juga dapat untuk menganalisis analit pada konsentrasi rendah. Oleh karena itu, tujuan dari percobaan ini adalah untuk mengetahui prosedur analisis dari suatu analit dengan menggunakan *gas chromatography* dan mengetahui waktu retensi yang dibutuhkan untuk mengidentifikasi suatu komponen.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah GC-FID HP5890II, *syringe*, tisu, sumber gas (Hidrogen, Nitrogen), komputer/PC. Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah etanol (fraksi massa > 0,99), aseton (fraksi massa > 0,995), sampel limbah biomassa dan air deionisasi.

Metode

Disiapkan larutan standar kalibrasi dengan larutan standar aseton dan etanol yang memiliki fraksi mol 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 yang selanjutnya dilarutkan dalam air deionisasi hingga mencapai volume 100 ml. Kemudian dipindahkan larutan standar tersebut ke dalam kontainer standar yang selanjutnya akan diinjeksikan larutan standar ke dalam kromatografi gas sesuai kondisi. Analit yang digunakan adalah hasil ekstraksi gas-cair dari limbah biomassa sistem aseton + etanol pada tekanan atmosferik (1 atm). Dilakukan dengan menggunakan metode destilasi sederhana yang diawali dengan memasang labu destilasi, kondensor, adaptor, dan labu penerima dan diisi labu destilasi dengan limbah biomassa sebanyak 500 ml. Dilakukan proses destilasi dengan pemanasan untuk menguapkan senyawa aseton dan etanol yang akan terkondensasi menjadi larutan cair di dalam labu penerima. Analisis kromatografi dilakukan dengan kromatografi gas HP5890II, dilengkapi dengan FID. Kolom yang digunakan adalah DB-WAX 3 m × 0,53 mm × 1 m. Gas pembawa yang digunakan adalah nitrogen dengan laju alir 2 mL/menit. Injeksi (0,5 L) dibuat dalam mode *splitless* pada suhu injektor 200 °C. Suhu detektor

diatur pada 235 °C. Program suhu yang digunakan adalah: suhu oven awal pada 80 °C meningkat pada 4°C/min hingga 140 °C, stabil pada 140 °C selama 2 menit, kemudian pada 4 °C/min hingga 225 °C dan dijaga konstan sampai akhir program.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kromatografi Gas merupakan salah satu teknik pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi pergerakan yang terjadi di antara fase gerak dan fase diam untuk pemisahan senyawa yang berada pada larutan. Senyawa gas yang terlarut dalam fase gerak, akan melewati kolom partisi yang merupakan fase diam (Faricha *et al.*, 2014). Tujuan percobaan dari riset ini adalah mengetahui prosedur analisis dari suatu analit dengan menggunakan kromatografi gas, mengetahui waktu retensi yang dibutuhkan untuk mengidentifikasi suatu komponen dan menganalisa produk berdasarkan hasil campuran senyawa organik volatil dari fermentasi limbah biomassa.

Prosedur percobaan diawali dengan melakukan preparasi sampel campuran aseton-etanol dengan melarutkan atau encerkan sampel untuk mencapai konsentrasi yang tepat dan menyiapkan kurva kalibrasi dengan distribusi 0 mol hingga 1 mol. Kemudian dilanjutkan pengoperasian instrumen Kromatografi Gas dengan menyalakan instrumen GC dan memastikan bahwa semua komponen sistem (kolom, detektor dll.) telah terpasang dan terhubung dengan benar. Setel parameter operasional GC seperti suhu kolom, suhu detektor, laju aliran gas pembawa, dan waktu retensi yang diinginkan. Tahap ketiga dilakukan proses injeksi sampel dengan mempersiapkan volume sampel yang akan diinjeksikan. Kemudian injeksikan sampel ke dalam inlet GC dengan menggunakan teknik injeksi yang tepat. Selanjutnya akan terjadi pemisahan dan deteksi yang komponen-komponen dalam sampel akan berinteraksi dengan fase stasioner dalam kolom, dengan komponen yang lebih mudah menguap akan melewati kolom lebih cepat daripada yang lebih berat, hal tersebut terjadi karena kromatografi gas berdasarkan perbedaan dalam distribusi komponen antara fase cair dan fase uap (Darmapatni *et al.*, 2016). Sehingga Detektor GC akan mendeteksi dan merekam sinyal yang dihasilkan oleh komponen-komponen yang melewatinya. Detektor yang digunakan adalah detektor jenis FID (*Flame Ionization Detector*) yang sesuai dengan komponen yang akan dianalisis yaitu senyawa aseton dan etanol salah satunya yaitu detektor nyala (FID). Selanjutnya dari data yang telah didapat, dapat dibuat data kurva kalibrasinya.

Tabel 1. Data kalibrasi komponen aseton

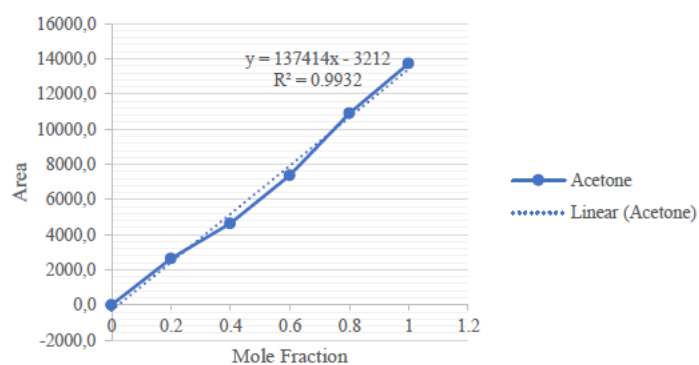
x₁ (Fraksi Mol Aseton)	Area
0	0
0,2	24657,66667
0,4	42400,20000
0,6	74103,53333
0,8	111126,7333
1	153856,40000

Tabel 2. Data kalibrasi komponen etanol

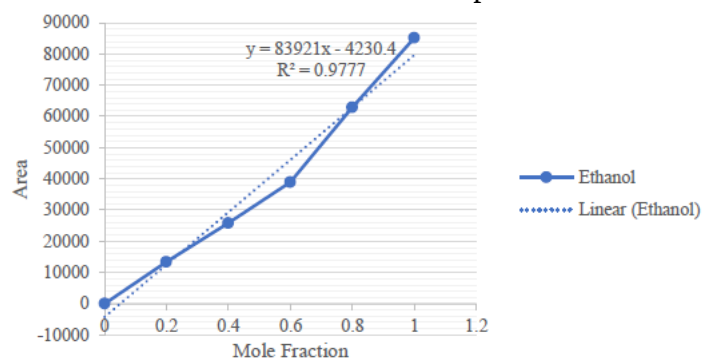
x₁ (Fraksi Mol Etanol)	Area
0	0
0,2	13785,73333
0,4	26428,43333
0,6	36295,00000
0,8	58248,13333
1	93189,73333

Tabel 1 dan Tabel 2 merupakan data kurva kalibrasi aseton dan etanol. Pengukuran kurva kalibrasi dilakukan untuk membangun hubungan antara konsentrasi atau jumlah analit yang terkandung dalam sampel dengan respons yang dihasilkan oleh metode analisis yang digunakan. Kurva kalibrasi digunakan sebagai dasar untuk mengukur kuantitas atau konsentrasi analit dalam sampel yang tidak diketahui. Pengukuran kurva kalibrasi dilakukan untuk beberapa tujuan penting dalam analisis instrumen. Pertama, kurva kalibrasi digunakan untuk mengukur konsentrasi atau jumlah dari suatu senyawa yang dianalisis dalam sampel yang tidak diketahui. Setelah dibuat kurva kalibrasi yang menghubungkan respons instrumen dengan konsentrasi standar yang diketahui, nantinya dapat melakukan perhitungan kuantitatif yang akurat pada sampel yang sedang dianalisis. Selain itu, kurva kalibrasi juga digunakan untuk memvalidasi metode analisis yang digunakan. Jika kurva kalibrasi menunjukkan respons yang linier, batas deteksi dan kuantifikasi yang sesuai, serta presisi yang memadai, dan juga dapat memastikan bahwa metode analisis yang digunakan dapat memberikan hasil yang akurat dan dapat diandalkan (Moosavi & Ghassabian, 2018).

Pengukuran kurva kalibrasi juga penting dalam identifikasi senyawa, karena dapat mengidentifikasi senyawa secara akurat. Kurva kalibrasi digunakan untuk mengoreksi variabilitas instrumen, dengan menggunakan standar yang diketahui untuk membangun kurva kalibrasi dapat mengidentifikasi dan mengoreksi perbedaan respons yang disebabkan oleh faktor-faktor non-analitik, seperti perbedaan suhu, aliran gas, atau perubahan kolom dalam instrumen. Langkah kalibrasi dilakukan dengan menginjeksi larutan standar yang telah disiapkan ke dalam GC dengan memastikan bahwa volume yang diinjeksi konsisten dan dengan teknik injeksi yang sesuai. Kemudian setelah data didapat, buat kurva kalibrasi dengan melakukan plot konsentrasi standar dengan metode regresi linier untuk mendapatkan garis kalibrasi. Kemudian evaluasi linearitas kurva kalibrasi dengan memeriksa koefisien determinasi (*R-squared*) dan *slope* faktor dari persamaan garis kalibrasi (Darmapatni *et al.*, 2016). Gambar 1 dan Gambar 2 merupakan grafik persamaan kurva kalibrasi.



Gambar 1. Kurva kalibrasi komponen aseton



Gambar 2. Kurva kalibrasi komponen etanol

Pada Gambar 1 dan Gambar 2 merupakan kurva kalibrasi pada larutan standar Aseton-Etanol. Pada grafik tersebut didapat persamaan regresi linear $y = 137414x - 3212$, dengan $R^2 = 0.9932$ untuk area 1 dan $y = 83921x - 4230.4$, dengan $R^2 = 0.9777$ untuk area 2. Persamaan tersebut merepresentasikan persamaan linear sederhana yaitu $y = a + bx$, di mana y adalah variabel dependen, x adalah variabel independen, a adalah intercept (titik potong garis regresi dengan sumbu Y), dan b adalah *slope* atau koefisien regresi yang menggambarkan perubahan dalam variabel dependen untuk setiap perubahan satuan dalam variabel independen. Sehingga dari persamaan tersebut dapat menentukan konsentrasi tiap sampel yang akan dianalisis (Panggabean dkk., 2019).

Pada Tabel 1 dan Tabel 2 terdapat nilai waktu retensi hasil pengukuran masing-masing komponen. Waktu retensi dalam kromatografi gas (GC) merupakan waktu yang dibutuhkan bagi suatu senyawa untuk melewati kolom GC dari saat injeksi hingga deteksi. Luaran yang dihasilkan adalah interval waktu antara saat injeksi sampel ke dalam kolom GC hingga puncak yang mewakili senyawa tersebut mencapai detektor. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi waktu retensi dalam GC meliputi komposisi fase diam, fase gerak, suhu kolom, kecepatan aliran fase gerak, serta sifat fisiko-kimia senyawa yang dianalisis (Sukma & Fajri, 2019). Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan nilai rata-rata waktu retensi untuk masing-masing komponen campuran aseton dan etanol adalah 1,13 menit, nilai rata-rata waktu retensi yang diberikan menunjukkan nilai tengah atau rata-rata dari waktu retensi yang diukur untuk kedua komponen tersebut dalam campuran. Dari data tersebut, dapat dilihat kromatogram aseton murni dan etanol murni dimana

kromatogram adalah representasi grafis dari hasil analisis menggunakan teknik kromatografi gas (Poulsen *et al.*, 2018). Pada kromatogram tersebut menyatakan representasi grafis dari hasil pemisahan komponen dalam sampel aseton dan etanol menggunakan kromatografi gas (GC). Kromatogram ini menggambarkan sinyal detektor yang dihasilkan oleh komponen-komponen dalam sampel sepanjang waktu retensi. Pada gambar kromatogram tersebut, terdapat waktu retensi masing-masing sampel untuk melewati kolom GC dan mencapai detektor, kemudian terdapat puncak kromatografi yang menampilkan puncak-puncak yang mewakili komponen-komponen dalam sampel yaitu aseton dan etanol. Dimana, puncak yang lebih tinggi dan lebih sempit menunjukkan pemisahan yang lebih baik. Terdapat luas di bawah puncak yang memberikan informasi tentang konsentrasi relatif atau jumlah komponen dalam sampel. Untuk bentuk puncak sendiri memberikan indikasi tentang kebersihan atau kompleksitas sampel. Puncak yang tajam dan simetris menunjukkan pemisahan yang baik dan sampel yang bersih, sedangkan puncak yang lebar atau asimetris dapat menunjukkan adanya gangguan atau keberadaan komponen tambahan dalam sampel (Sukma & Fajri, 2019). Kemudian didapat hasil analisis sampel yang dicantumkan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Data Hasil Analisis Sampel Aseton-Etanol

Komponen	Peak Area		Area		Fraksi Mol		Normalisasi 2		TOTAL
	Aseton	Etanol	Aseton	Etanol	Aseton	Etanol	Aseton	Etanol	
Aseton + Etanol (VLE 1)	45479,0	11478,6	65377,93	16638,33	0,499148	0,106908	0,83163	0,16837	1
	58955,5	14503,9							
	74785,3	17901,1							
	65201,8	16398,8							
	64963,8	16870,0							
	53346,1	15023,4							
	69028,2	18706,4							
	65968,2	16646,2							
Aseton + Etanol (VLE 2)	60576,8	22029,5	63078,37	23739,43	0,802049	0,312912	0,687873	0,312127	1
	46945,0	17241,9							
	65670,1	25081,4							
	62988,2	24107,4							
	50089,7	22486							
	43126,5	16292,6							
	55338,5	22999,8							

Dari Tabel 3 didapat data hasil fraksi mol analisis sampel sebelum normalisasi adalah 0,499148 untuk aseton dan 0,106908 untuk etanol pada percobaan 1 dan 0,802049 untuk aseton dan 0,312912 untuk etanol pada percobaan 2. Jumlah fraksi mol pada kedua percobaan tersebut masih kurang mendekati angka 1. Oleh karena itu perlu dilakukan normalisasi, dimana normalisasi area pada gas kromatografi adalah metode yang umum digunakan untuk memperoleh hasil yang lebih akurat dan relatif dari puncak kromatografi

yang dihasilkan. Normalisasi area melibatkan penyesuaian area puncak kromatografi berdasarkan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi intensitas sinyal, seperti perubahan laju aliran gas pembawa, perubahan volume sampel, atau perbedaan sensitivitas detektor (Sugiharto dkk., 2022).

Dari hasil percobaan didapatkan fraksi mol setelah normalisasi ke-2 adalah 0,83163 untuk aseton dan 0,16837 untuk etanol pada percobaan 1 dan 0,687873 untuk aseton dan 0,312127 untuk etanol pada percobaan 2. Sehingga ketika di total akan mendapatkan nilai 1. Nilai 1 menunjukkan bahwa area puncak analit tersebut telah disesuaikan dan dikoreksi untuk memperhitungkan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi intensitas sinyal, seperti laju aliran gas pembawa, volume sampel, atau sensitivitas detektor. Dengan normalisasi area menjadi 1, perbandingan relatif antara analit yang menunjukkan tingkat validitas dan keandalan yang tinggi dari hasil yang diperoleh (Sparkman *et al.*, 2011). Riset ini memberikan kontribusi baru dalam pengembangan metode analisis yang lebih andal dan efektif untuk senyawa-senyawa organik volatil, khususnya aseton dan etanol yang dihasilkan dari fermentasi limbah biomassa.

KESIMPULAN

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Waktu retensi yang dibutuhkan untuk mengidentifikasi aseton adalah 1,2 menit. Sedangkan, untuk etanol sebesar 1,06 menit.
2. Metode pengukuran yang dilakukan memiliki kehandalan yang sangat tinggi yaitu dengan nilai R^2 sebesar 0,9932 dan 0,9777, menunjukkan bahwa metode analisis dapat digunakan untuk memonitor dan mengukur kadar aseton dan etanol dalam proses fermentasi limbah biomassa sehingga membuka potensi untuk penggunaan bahan kimia alternatif dalam produk-produk industri yang saat ini bergantung pada bahan bakar fosil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua elemen Laboratorium Kimia Terapan, Departemen Teknik Kimia Industri yang telah memberikan wadah bagi kami untuk melakukan penelitian dan juga berterima kasih kepada Institut Teknologi Sepuluh Nopember yang telah memfasilitasi kami melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aquilon, A.F., Cargullo, D.M., Onayan, J., Sarno, J., Molino, V.M. & Lopez, E.C.R., 2023. Recent Advances in Extractive Distillation. *Engineering Proceedings*. 56(1): 11.
- Darmapatni, K.A.G., Basori, A. & Suaniti, N.M. 2016. Pengembangan metode GC-MS untuk penetapan kadar acetaminophen pada spesimen rambut manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 18(3): 255-266.

- Faricha, A., Rivai, M. & Suwito, S. 2014. Sistem identifikasi gas menggunakan sensor surface acoustic wave dan metoda kromatografi. *Jurnal Teknik ITS*. 3(2): A157-A162.
- Kalapos, M.P. 2014. Acetone. in Wexler, P. (ed) *Encyclopedia of Toxicology*. 3rd ed. pp. 36–39. Academic Press. Oxford.
- Mendiburu, A.Z., Lauermann, C.H., Hayashi, T.C., Mariños, D.J., da Costa, R.B.R., Coronado, C.J., Roberts, J.J. & de Carvalho Jr, J.A. 2022. Ethanol as a renewable biofuel: Combustion characteristics and application in engines. *Energy*, 257: 124688.
- Moosavi, S.M. & Ghassabian, S. 2018. Linearity of calibration curves for analytical methods: A review of criteria for assessment of method reliability. In Stauffer, M.T. (Ed.). *Calibration and Validation of Analytical Methods: A Sampling of Current Approaches*, pp. 109-127. IntechOpen. London.
- Panggabean, A.S., Widyastuti, T. & Hindryawati, N. 2019. Validasi metode penentuan benzena, toluena dan xilena pada sampel udara dan tanah menggunakan kromatografi gas. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 15(2): 177-189.
- Poulsen, K.G., Kristensen, M., Tomasi, G., Cruz, M.D. & Christensen, J.H. 2018. The pixel-based chemometric approach for oil spill identification and hydrocarbon source differentiation: Two case studies from the Persian Gulf. In Stout, S.A. & Wang, Z. (Ed.). *Oil Spill Environmental Forensics Case Studies*. pp. 443-463. Butterworth-Heinemann. Oxford.
- Seo, E., Yun, C.I., Park, J.W., Lee, G. & Kim, Y.J. 2024. Comparison of three HPLC analytical methods: ELSD, RID, and UVD for the analysis of xylitol in foods. *Food Science and Biotechnology*. 33: 2971–2978.
- Sparkman, O.D., Penton, Z. & Kitson, F.G. 2011. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide*. 2nd ed. Academic Press. New York.
- Sugiharto, Y., Natania, E., Febriyanti, S.A. & Krisbianto, O. 2022. Perbandingan beberapa detektor kromatografi gas dan aplikasinya dalam analisis pangan. *Journal of Food and Agricultural Product*. 2(1): 23-36.
- Sukma, F.F. & Fajri, R. 2019. Identifikasi asam dehidroasetat dalam produk kosmetika dengan menggunakan HPLC (High Performance Liquid Chromatography). *QUIMICA: Jurnal Kimia Sains dan Terapan*. 1(2): 15-17.