

PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE SPEKTROSKOPI INFRAMERAH DEKAT (NIRS) UNTUK PENETAPAN KADAR ETANOL DALAM BIOETANOL

Leny Irawati^{1,1*}, Basim Thariq², Maman Suherman², Badaruddin²

¹Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Ujung Pandang, Makassar, 90245

² Jurusan Teknik Elektro Politeknik Negeri Ujung Pandang, Makassar, 90245

ABSTRACT

This study aims to develop and validate the Near Infrared Spectroscopy (NIRS) method for determining ethanol content in bioethanol. This method is an alternative to determining ethanol content in bioethanol in laboratories, which currently use Gas Chromatography (GC), a method that is costly and time-consuming, as well as specific gravity measurement and refractive index reading methods, which are relatively inexpensive but have low accuracy. In addition to being faster and cheaper, the NIRS method can be used to determine ethanol content directly, without prior distillation, so that the determination can be done in real time. This research was conducted through method development and method validation.. In method development, ethanol standard spectrum readings were taken at several concentrations, and processed using NirCal Chemometric Buchi software to build a calibration model that produced a Standard Error of Calibration (SEC) value of 0.2234. The method validation parameter was for linearity, precision, and accuracy, all meet the AOAC acceptance criteria, linearity value of 0.999, precision value of $\%RSD \leq 2/3 CV$ Horwitz, and accuracy value (% recovery) of 104.88% on average. As a comparison, ethanol content was determined using the visible spectrophotometer method. The T-test results showed that both methods no significantly different.

Keywords: *Method Development, Validation, Infrared Spectroscopy Ethanol, Bioethanol*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode Spektroskopi Inframerah Dekat (Near Infrared Spectroscopy/NIRS) untuk penentuan kadar etanol dalam bioetanol. Metode ini merupakan alternatif untuk menentukan kadar etanol dalam bioetanol di laboratorium yang selama ini menggunakan metode Gas Kromatografi (GC) yang membutuhkan biaya besar dan waktu lama, serta metode pengukuran berat jenis dan pembacaan indeks bias yang relatif murah tetapi memiliki akurasi yang rendah. Selain lebih cepat dan lebih murah, metode NIRS dapat digunakan untuk menentukan kadar etanol secara langsung, tanpa melakukan destilasi terlebih dahulu sehingga penentuan kadar etanol hasil fermentasi dapat dilakukan secara realtime. Penelitian ini dilakukan melalui tahap pengembangan metode dan validasi metode uji. Pada pengembangan metode, dilakukan pembacaan spektrum standar etanol pada beberapa konsentrasi yang kemudian diolah dengan bantuan software NirCal Chemometric Buchi untuk membangun sebuah model kalibrasi yang menghasilkan nilai Standar Error Calibration (SEC) sebesar 0.2234. Validasi metode uji dilakukan terhadap parameter linieritas, presisi dan akurasi yang masing-masing nilanya telah memenuhi syarat keberteriman menurut AOAC yaitu linieritas 0.999, nilai presisi $\%RSD \leq 2/3 CV$ Horwitz, dan nilai akurasi (% recovery) rata-rata 104,88%. Sebagai perbandingan dilakukan penentuan kadar etanol menggunakan metode Spektrofotometer visibel. Hasil Uji T menunjukkan bahwa kedua metode tidak memiliki perbedaan yang nyata.

Kata Kunci: *Pengembangan metode, Validasi, Spektroskopi Inframerah, Alkohol, Bioetanol*

1. PENDAHULUAN

Meningkatnya kebutuhan energi global dan emisi gas rumah kaca akibat penggunaan bahan bakar fosil, telah mendorong pengembangan sumber energi terbarukan. Salah satu bahan bakar hayati yang menjanjikan adalah bioetanol karena sifatnya yang terbarukan, ramah lingkungan dan mampu mengurangi emisi gas rumah kaca. Bioetanol merupakan salah satu sumber energi terbarukan selain biodiesel, yang pada dekade terakhir ini semakin banyak dikembangkan untuk mengatasi ketergantungan yang besar terhadap bahan bakar fossil [1] . Bioetanol dapat dibuat dari tanaman pangan seperti jagung, tebu, gandum, dan ubi kayu, dan dapat juga dibuat dari bahan limbah pertanian seperti jerami dan tongkol jagung, serta limbah perkebunan contohnya limbah sawit, dan juga dari limbah makanan. Selain itu bioetanol juga dapat dibuat dari biomassa,seperti rumput laut dan ganggang, serta dari lignoselulosa seperti kayu, jerami dan tongkol jagung [2].

*Korespondensi penulis: Leny Irawati: irawatileny@gmail.com

Proses pembuatan bioetanol umumnya melibatkan fermentasi bahan baku yang mengandung gula atau pati dengan bantuan mikroorganisme seperti ragi. Kemudian, produk fermentasi didestilasi untuk menghasilkan etanol yang lebih murni. Salah satu aspek penting dari bioetanol adalah kandungan alkoholnya, karena akan mempengaruhi kualitas dan efisiensi penggunaannya. Karena itu, untuk menentukan kandungan alkohol di dalam bioetanol dibutuhkan metode yang tepat dan memiliki akurasi yang tinggi.

Terdapat beberapa cara untuk menentukan kadar etanol dalam bioetanol. Beberapa diantaranya adalah pengukuran berat jenis [3], metode pengukuran indeks bias menggunakan refraktometer [4], dan metode spektrofotometri visible oksidasi dikromat [5]. Dari beberapa metode tersebut, yang paling umum digunakan adalah metode pengukuran berat jenis, namun metode ini membutuhkan sampel dalam jumlah yang banyak. Pada metode indeks bias menggunakan refraktometer permasalahan yang timbul adalah adanya pengaruh suhu, kemurnian sampel, indeks bias dan keterbatasan pada rentang pengukuran. Sedangkan pada metode spektrofotometri dibutuhkan volume sampel yang besar dan bahan kimia yang digunakan termasuk kategori bahan berbahaya dan beracun.

Kelemahan yang ada pada beberapa metode analisis etanol tersebut dapat diatasi dengan metode Kromatografi Gas (GC). Metode GC digunakan untuk analisis etanol karena kemudahan analisis, sensitivitas, akurasi, spesifikasi relatif, pengukuran yang cepat dan jumlah sampel yang kecil [6]. Namun metode GC juga memiliki kelemahan antara lain biaya operasional yang tinggi terutama untuk gas pembawa (*carrier gas*) dan diperlukan keahlian khusus untuk mengoperasikan, menginterpretasi hasil dan perawatan alat. Atas dasar kelemahan dari beberapa metode tersebut, penelitian ini mengembangkan metode Spektroskopi inframerah untuk penentuan kadar etanol dalam bioetanol. Metode ini memiliki kelebihan antara lain lebih cepat, tidak merusak sampel, tidak memerlukan preparasi sampel, tidak menggunakan bahan kimia, ramah lingkungan dan hasilnya memiliki akurasi yang tinggi.

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengembangkan metode spektroskopi inframerah untuk menentukan kadar etanol dalam minuman beralkohol. Pada tahun 2005 Ramasami *et al* telah melakukan penelitian yang hasilnya menyatakan bahwa Metode spektroskopi inframerah dapat digunakan untuk menentukan kadar alkohol dalam minuman, dan metode spektroskopi inframerah dapat mendeteksi jika terdapat kontaminan metanol[7]. Toivola *et al* pada tahun 2005 melakukan penelitian yang penelitian yang menyimpulkan bahwa Metode Spektroskopi infra merah dapat digunakan untuk menentukan kadar alkohol pada minuman dengan kadar alkohol rendah $>0.37\%$ dengan rezipitabilitas yang dapat diterima [8]. Pada tahun 2017, Baumgarten melakukan penelitian yang hasilnya membuktikan bahwa metode Spektroskopi inframerah cukup akurat untuk analisis rutin di laboratorium dan metode ini tidak membutuhkan bahan kimia. [9]

Pada praktikum Produksi Bioetanol di Laboratorium Teknologi Bioproses dan praktikum Distilasi fraksionasi di Laboratorium Kimia Fisika Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang selama ini masih menggunakan metode sederhana untuk menentukan kadar etanol yang dihasilkan, yaitu dengan cara penentuan berat jenis yang tingkat akurasinya rendah. Karena itu dibutuhkan suatu metode yang dapat memberikan hasil analisis dengan tingkat akurasi yang lebih tinggi. Penelitian ini focus pada pengembangan metode Spektroskopi infra merah untuk menentukan kadar etanol dalam bioetanol. Untuk dapat menganalisis kadar etanol menggunakan alat spektrofotometri infra merah diperlukan serangkaian data spektrum etanol yang telah diketahui kadar etanolnya. Kadar etanol tersebut diperoleh dari hasil pengenceran etanol absolut dan dibuat dalam beberapa macam konsentrasi untuk membangun sebuah kurva kalibrasi dengan nilai koefisien korelasi yang baik. Untuk memastikan validitas metode ini, dilakukan pengujian terhadap beberapa parameter validasi metode uji antara lain linieritas, presisi dan akurasi. Validasi metode uji perlu dilakukan karena metode ini bukan metode standar, tetapi merupakan metode yang dikembangkan di laboratorium. Hasil dari validasi metode akan menjadi rujukan untuk penggunaan metode ini di laboratorium.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan **penelitian eksperimental laboratorium** yang bersifat **metodologis**, dengan tujuan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode spektroskopi inframerah dekat (NIRS) pada penetapan kadar alkohol (etanol) dalam sampel bioetanol. Metode penentuan kadar etanol menggunakan spektroskopi inframerah ini harus divalidasi karena merupakan metode yang dikembangkan sendiri di laboratorium. Validasi metode dilakukan berdasarkan beberapa parameter analisis antara lain linieritas, presisi dan akurasi yang mengacu pada standar yang ditetapkan oleh International Conference on Harmonisation (ICH) [10].

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain Etanol Absolut (Supelco), tapai ketan hitam, akuades, alumunium foil, Kalium dikromat (Merck), Asam Sulfat (Merck). Alat yang digunakan antara lain Near Infrared Spektrometer (NIR Proximate Buchi) beserta asesori standarnya, petri dish diameter 10 cm, Spektrofotometer UV VIS Thermo Scientific Orion AquaMate 8000, kuvet, labu ukur, pipet ukur, pipet volume, bola isap, gelas kimia dan labu semprot.

Prosedur penelitian terbagi menjadi tahap pengembangan metode dan tahap validasi metode. Pada tahap pengembangan metode diawali dengan penyiapan alat dan bahan, pengambilan dan persiapan sampel dan kemudian dilakukan tahap utama yaitu pembuatan kurva kalibrasi. Pada pembuatan kurva kalibrasi disiapkan 12 sampel etanol pada rentang konsentrasi 2% hingga 26%. Kemudian dilakukan pengambilan data/perekaman data spektrum masing-masing sampel pada alat spektroskopi inframerah dekat (NIRS), untuk membangun kurva kalibrasi. Sampel bioetanol disiapkan dengan melakukan fermentasi tapai ketan hitam hingga 144 jam. Tape ketan hitam kemudian diperas dan diambil filtratnya untuk ditentukan kadar etanolnya menggunakan alat Spektrofotometer UV Visibel dan alat NIRS. Filtrat yang telah diperas kemudian disebut sebut sebagai bioetanol dan ditentukan kadar etanolnya pada 72 , 96, 120 jam dan 144 jam. Kadar etanol pada fermentasi 72, 96 dan 120 jam digunakan untuk menentukan data presisi, sedangkan kadar etanol pada 144 jam digunakan untuk menentukan akurasi metode dan untuk membandingkan hasil akhir dengan pengukuran menggunakan Spektrofotometer Visibel.

Penentuan kadar etanol hasil fermentasi menggunakan metode Spektrofotometri Visibel dilakukan dengan memipet 10 ml sampel kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan diimpitkan hingga tanda batas dan dihomogenkan. Kemudian dipipet 1 ml dan ditambahkan larutan Kalium dikromat 0.1 N dan 1 ml larutan asam sulfat 6 N lalu diaduk hingga homogen. Larutan didiamkan selama 10 menit kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600 nm. Dibuat kurva kalibrasi untuk menentukan hubungan antara absorbansi dengan kadar etanol. Kadar etanol dihitung dengan cara memplot data absorbansi terhadap kurva kalibrasi etanol.

Pada penentuan kadar etanol hasil fermentasi menggunakan metode NIRS, dilakukan dengan cara *scanning* terhadap filtrat hasil fermentasi (bioetanol) pada alat NIRS. Hasil fermentasi tersebut dapat dibaca secara langsung tanpa melalui tahap distilasi. Kadar etanol langsung terbaca pada alat berdasarkan kurva kalibrasi dari dua belas sampel yang telah dibangun dan diolah datanya menggunakan software NIR Cal chemometric Buchi.

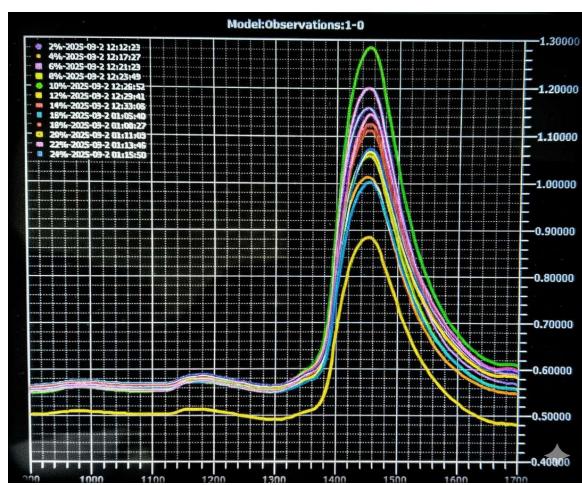
Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi syarat untuk penggunaannya [11]. Terdapat beberapa parameter dalam validasi metode menurut ICH antara lain linearitas, presisi, akurasi, limit deteksi dan limit kuantitas. Dalam penelitian ini parameter validasi yang akan dilakukan adalah linearitas, presisi dan akurasi. Pada penelitian ini linieritas diperoleh dari kurva kalibrasi etanol. Syarat keberterimaan parameter linieritas adalah koefisien korelasi ≤ 0.995 . Untuk menentukan presisi, dilakukan pengukuran sebanyak tujuh kali dan dihitung %RSD dan nilai 2/3 CV Horwitz. Syarat keberterimaan adalah $\%RSD < 2/3$ CV Horwitz. Untuk penentuan akurasi juga dilakukan sebanyak tujuh kali ulangan dan syarat keberterimaan mengacu pada table AOAC. Akurasi ditentukan sebagai % recovery standar (*spike*) yang ditambahkan terhadap sampel. Konsentrasi *spike* sampel (A), konsentrasi sampel (B), dan konsentrasi *spike* (C). Persen *recovery* dihitung sebagai:

Setelah dilakukan penentuan kadar etanol menggunakan metode Spektrofotometer UV VIS dan metode NIRS, dilakukan uji T untuk membandingkan kedua metode tersebut untuk mengetahui apakah pada kedua metode tersebut terdapat perbedaan yang nyata.

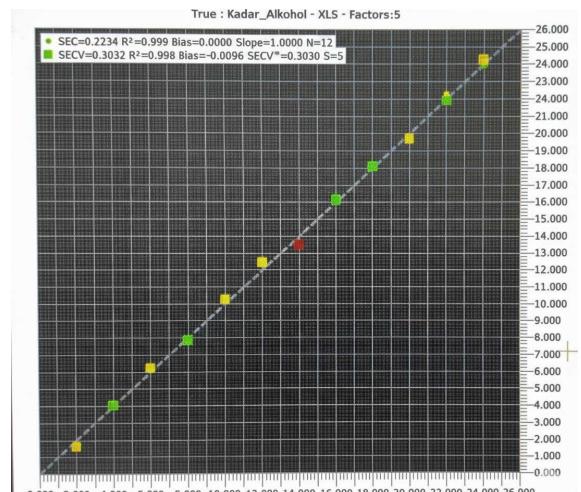
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengembangan Metode

Hasil pembacaan spektrum/perekaman data standar etanol yang terdiri dari dua belas konsentrasi pada rentang 2-26% dapat dilihat pada Gambar 1. dan Kurva Kalibrasi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Spektrum Etanol Konsentrasi 2%-26%

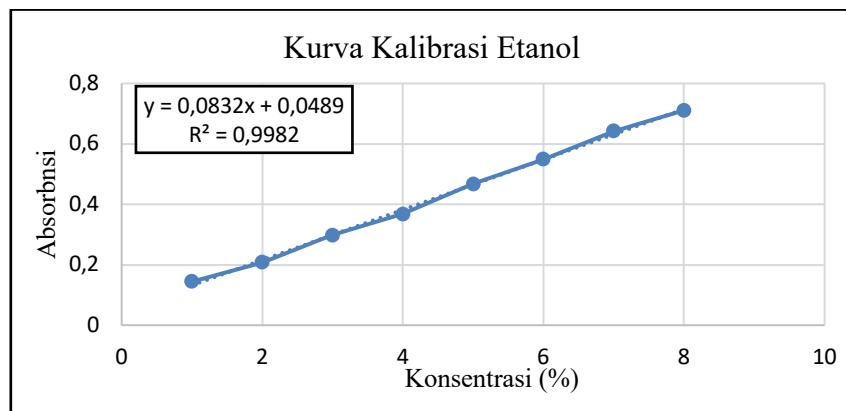


Gambar 2. Model Kurva Kalibrasi Etanol

Berdasarkan spektrum NIR pada Gambar 1 yang menampilkan 12 spektrum larutan etanol dengan konsentrasi bervariasi dari 2-26 % dapat dijelaskan hubungan antara konsentrasi dan intensitas serapan. Pada gambar terlihat bahwa terdapat korelasi yang jelas antara konsentrasi etanol dan intensitas serapan (tinggi puncak). Secara umum, seiring dengan peningkatan konsentrasi etanol (dari 2% hingga 26%), intensitas puncak serapan di daerah sekitar 1450 nm juga meningkat secara berurutan. Spektrum yang memiliki puncak terendah sesuai dengan konsentrasi 2% dan spektrum tertinggi sesuai dengan konsentrasi 26%. Hubungan linier antara konsentrasi dan serapan pada Panjang gelombang tertentu merupakan dasar dari Hukum BEER-Lambert. Data ini menunjukkan bahwa spektroskopi NIR dapat digunakan untuk analisis kuantitatif larutan etanol, misalnya untuk kalibrasi instrument atau prediksi konsentrasi sampel yang tak dikenal (*unknown*). Karakteristik Spektral Spektrum pada gambar menunjukkan beberapa ciri khas antara lain Puncak utama: terlihat adanya puncak serapan yang berpusat antara 1400 nm dan 1500 nm, dengan puncak maksimum tampak berada di sekitar 1450 nm. Dalam spektroskopi NIR, serapan di daerah ini biasanya disebabkan oleh vibrasi ulur *overtone* pertama dari gugus Hidroksil (O-H) atau vibrasi ulur kombinasi dari molekul air dan ikatan (O-H) dalam etanol. Karena etanol dicampur dengan air, puncak ini mencerminkan interaksi ikatan hidrogen antara etanol dan air. Selain itu, terdapat sedikit serapan pada rentang Panjang gelombang lebih rendah (sekitar 1100 nm hingga 1300 nm) yang mungkin merupakan *overtone* kombinasi lain dari vibrasi (C-H) atau (O-H). Data spektrum ini sangat relevan digunakan untuk pengembangan metode. Pengembangan metode dilakukan dengan membangun model kalibrasi. Spektrum etanol konsentrasi 2%-26% adalah training set untuk membangun model kalibrasi kemometrik (PLS). Perubahan spektrum yang teratur dari setiap konsentrasi menunjukkan bahwa metode pengukuran ini sensitif terhadap perubahan konsentrasi dan memiliki reproduksibilitas yang baik. Evaluasi keakuratan model kalibrasi dilakukan dengan cara melihat parameter statistik meliputi koefisien korelasi (*r*), koefisien determinasi (*R*²), *Standar Error Calibration* (SEC) dan *Standar Error Cross Validation* (SECV). SEC adalah perbedaan antara nilai konsentrasi yang diprediksi dengan nilai aktual semua sampel yang digunakan dalam kalibrasi. Sedangkan SECV adalah nilai validasi silang (cross validation) yaitu perbedaan antara nilai konsentrasi yang diprediksi dengan nilai aktual dalam set data (sampel) yang tidak digunakan dalam proses kalibrasi. Pada model Kurva Kalibrasi Etanol, nilai (*r*) 0.9995, (*R*²) 0.999, SEC 0.2234 dan SECV 0.332. Nilai-nilai tersebut menunjukkan bahwa model kalibrasi sangat akurat dan memiliki kemampuan prediksi yang kuat untuk sampel baru. Meskipun demikian, terhadap metode ini tetap dilakukan validasi metode uji sebelum digunakan di laboratorium.

Penentuan Kadar Etanol

Penentuan Kadar Etanol pada sampel bioethanol hasil fermentasi tape dilakukan menggunakan metode NIRS dan Spektrofotometer UV VIS. Hasil kedua metode tersebut dapat dilihat pada Tabel 1 dan Kurva Kalibrasi Etanol disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Etanol Metode Spektrofotometri

Tabel 1. Perbandingan Kadar Etanol Sampel Menggunakan Metode NIRS dan Spektrofotometri

Ulangan	Kadar Etanol	
	Metode NIRS	Metode Spektrofotometri
1	38.25	36.91
2	37.55	36.96
3	36.75	37.09
4	36.50	37.21
5	35.60	37.33
6	35.25	37.39
7	34.45	37.45
Rata-rata	36.36	37.19
SD	1.33	0.21
%RSD	3.66	0.56

Validasi Metode Uji.

Pada Validasi Metode Penentuan Kadar Etanol dalam Bioetanol menggunakan metode NIRS, Linieritas metode merujuk pada nilai Koefisien Korelasi dari Kurva Kalibrasi yang dihasilkan. Pada penelitian ini, nilai koefisien korelasi sebesar 0.9995 yang berarti telah memenuhi syarat untuk parameter linieritas yaitu koefisien korelasi ≥ 0.995 . Untuk parameter presisi, telah dilakukan pengukuran sebanyak tujuh kali dan dihitung %RSD dan nilai $2/3$ CV Horwitz. Syarat keberterimaan adalah $\%RSD < 2/3$ CV Horwitz. Data hasil pengukuran dan perhitungan presisi tersaji pada Tabel 2. Parameter Akurasi pada penelitian ini ditentukan sebagai $\% recovery$ standar (*spike*) yang ditambahkan terhadap sampel. Pada penelitian ini, *spike* adalah standar alkohol 5%. Konsentrasi *spike* sampel (A), konsentrasi sampel (B), dan konsentrasi *spike* (C). Setelah dilakukan pengukuran sebanyak tujuh kali ulangan. Diperoleh hasil yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil Penentuan Preisi Metode

Ulangan	Konsentrasi Etanol (%)		
	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3
1	25.72	29.55	33.91
2	25.02	29.40	33.67
3	24.97	29.31	33.61
4	24.93	29.24	33.39
5	24.87	29.16	33.95
6	24.82	29.08	33.25
7	24.78	29.03	33.28
Rata-rata	25.02	29.25	33.58
SD	0.32	0.18	0.26
%RSD Percobaan (CVP)	1.29	0.63	0.26
RSD Horwitz (CVH)	2.46	2.41	2.36
2/3 CVH	1.65	1.61	0.85
Syarat: CVP<2/3 CVH	memenuhi	memenuhi	memenuhi

Tabel 3. Hasil Penentuan Akurasi Metode (%Recovery)

Ulangan	Konsentrasi Spike	Konsentrasi Sampel	% Recovery
	Sampel (%)	(%)	
1	13.68	5.90	102.20
2	13.38	5.85	100.34
3	13.29	5.79	102.59
4	13.06	5.74	100.34
5	13.36	5.68	109.85
6	13.15	5.61	108.73
7	13.11	5.65	110.09
Rata-rata			104.88
Syarat (90-107%)			memenuhi

Pada penentuan presisi metode, dilakukan terhadap tiga sampel bioetanol dengan waktu fermentasi yang berbeda. Dari hasil pengukuran terlihat bahwa tiap sampel memenuhi syarat keberterimaan untuk parameter presisi yaitu nilai %RSD $< 2/3$ CV Horwitz. Hal ini menunjukkan bahwa metode memiliki nilai repitibilitas yang baik, karena selisih antara setiap pengulangan pembacaan sangat kecil. Pada pengukuran akurasi diperoleh nilai yang cukup bervariasi. Hal ini terjadi karena untuk setiap sampel dilkukan penambahan standar yang memungkinkan terjadinya kesalahan yang tidak sedikit. Meskipun demikian, hasil yang diperoleh masih di dalam rentang yang syarat keberterimaan menurut table AOAC. Hasil pengujian kadar etanol menggunakan metode NIRS dan metode Spektrofotometer yang ditampilkan pada Tabel 1. Setelah diolah dengan Uji T menggunakan SPSS 25 dapat diketahui bahwa pada tingkat signifikansi 0.05, derajat kebebasan 6, nilai t hitung (-1.471) lebih kecil dibanding nilai T table (2,477) maka Hipotesis Nol dapat diterima. Dapat disimpulkan pula bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan secara statistik antara hasil pengukuran konsentrasi etanol menggunakan metode NIR dan metode Spektrofotometri pada tingkat kepercayaan 95%. Dengan demikian metode Spektroskopi Inframerah untuk menentukan kadar etanol alam bioethanol dapat digunakan di laboratorium karena telah memenuhi kriteria keberterimaan validasi metode uji untuk parameter linieritas, presisi dan akurasi serta menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan dengan metode spektrofotometer.

4. KESIMPULAN

Dari hasil pengembangan metode dan perolehan data pada validasi metode uji dapat disimpulkan bahwa metode Sepektroskopi Inframerah Dekat (NIRS) dapat digunakan untuk menentukan kadar etanol pada bioetanol hasil fermentasi. Metode ini memiliki keunggulan karena lebih cepat, hemat biaya, tidak membutuhkan bahan kimia dan dapat digunakan secara langsung pada hasil fermentasi tanpa melakukan proses distilasi untuk memisahkan etanolnya. Selain itu, metode ini juga dapat digunakan untuk memantau proses fermentasi bioetanol karena penentuan kadar etanol dapat dilakukan pada saat fermentasi sedang berlangsung (*real time*)..

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis haturkan kepada Direktur Politeknik Negeri Ujung Pandang dan kepada Kepala Unit Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Politeknik Negeri Ujung Pandang yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini dengan dana yang bersumber dari BLU PNUP Tahun 2025 dengan Nomor Kontrak 22/12/AL.04/2025 Tanggal 12 Juni 2025, sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. Bušić *et al.*, “Bioethanol production from renewable raw materials and its separation and purification: A review,” *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 56, no. 3, pp. 289–311, 2018, doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5546.
- [2] Y. Susmiati, “The Prospect of Bioethanol Production from Agricultural Waste and Organic Waste,” *Ind. J. Teknol. dan Manaj. Agroindustri*, vol. 7, no. 2, pp. 67–80, 2018, doi: 10.21776/ub.industria.2018.007.02.1.
- [3] D. Moales, A. F. Spac, M. Prisecaru, and E. Butnaru, “Determining the Concentration of Alcohol From the Natural Distillate,” *Stud. și Cercet.*, vol. 19, no. May, pp. 63–71, 2016.
- [4] M. Gerogiannaki-Christopoulou, N. V. Kyriakidis, and P. E. Athanasopoulos, “New refractive index method for measurement of alcoholic strength of small volume samples,” *J. AOAC Int.*, vol. 86, no. 6, pp. 1232–1235, 2003, doi: 10.1093/jaoac/86.6.1232.
- [5] S. Sumbhate, S. Nayak, D. Goupale, A. Tiwari, and R. S. Jadon, “Colorimetric Method for the Estimation of Ethanol in Alcoholic-Drinks Journal of Analytical Techniques 1 (2012) 1-6 Colorimetric Method for the Estimation of Ethanol in Alcoholic-Drinks,” *J. Anal. Tech.*, vol. 1, no. April 2014, pp. 1–6, 2012, [Online]. Available: <http://www.arjournals.org/index.php/jat/index>
- [6] D. Hermanto, “Penentuan Kandungan Etanol dalam Makanan dan Minuman Fermentasi Tradisional Menggunakan Metode Kromatografi Gas,” *Chempublish J.*, vol. 5, no. 2, pp. 105–115, 2021, doi: 10.22437/chp.v5i2.8979.
- [7] P. Ramasami, S. Jhaumeer-Laulloo, F. Cadet, P. Rondeau, and Y. Soophul, “Quantification of alcohol in beverages by density and infrared spectroscopy methods,” *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 56, no. 3, pp. 177–183, 2005, doi: 10.1080/09637480500146713.
- [8] A. Toivola, P. Varjú, and J. Torrent, “Determination of alcohol in low alcohol and non alcohol beers by gas chromatography-FID, near infra red spectroscopy and catalytic combustion methods,” *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, vol. 58, no. 5–6, 2005, doi: 10.1002/j.2050-0416.2005.tb00675.x.
- [9] G. F. Baumgarten, “The Determination of Alcohol in Wines by Means of Near Infrared Technology,” *South African J. Enol. Vitic.*, vol. 8, no. 2, pp. 75–77, 2017, doi: 10.21548/8-2-2318.
- [10] D. W. G. Harron, “Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: The ICH Process,” *Textb. Pharm. Med.*, vol. 1994, no. October 1994, pp. 447–460, 2013, doi: 10.1002/9781118532331.ch23.