



Pengaruh Perlakuan Awal Ampas Biji Jewawut (*Setaria italica* L.) dengan *Microwave Irradiation* untuk Produksi Bioetanol

Sefrinus Maria Dolfi Kolo*, Noviana Mery Obenu, Natalia Tige Rohy

Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian, Universitas Timor
Jalan Km.09, Kelurahan Sasi, Nusa Tenggara Timur 85613, Indonesia Telp. (0388)2431111

*Corresponding author: sefrichem@unimor.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.18.2.59819.183-192

Received 04 March 2022, Accepted 26 June 2022, Published 30 September 2022

Kata kunci:

ampas jewawut;
bioetanol;
fermentasi;
hidrolisis;
microwave.

ABSTRAK. Produksi energi terbarukan termasuk bioetanol menjadi alternatif pengganti bahan bakar fosil. Salah satunya dari ampas jewawut karena memiliki kandungan selulosa sebesar 32,41% sehingga sangat potensial dan ekonomis sebagai sumber energi baru terbarukan. Penelitian ini bertujuan mengetahui morfologi permukaan, suhu dan konsentrasi H_2SO_4 optimum pada proses hidrolisis menggunakan *microwave* dan kadar bioetanol dari hidrolisat ampas biji jewawut. Penelitian ini terdiri atas empat tahapan yaitu proses hidrolisis menggunakan *microwave*, fermentasi, distilasi dan pengujian kadar bioetanol baik secara kualitatif maupun kuantitatif menggunakan metode berat jenis dan kromatografi gas. Hidrolisis dilakukan melalui variasi suhu 75 °C, 100 °C, 125 °C, 150 °C, dan 175 °C dan konsentrasi H_2SO_4 0,5%, 1%, 2%, 5% dan 7%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa morfologi permukaan sampel sebelum hidrolisis memiliki permukaan yang datar, kasar dan kaku namun setelah dihidrolisis permukaan sampel menjadi rapuh dan halus. Analisa gula pereduksi menggunakan pereaksi DNS (dinitrosalisilat) diperoleh suhu optimum *microwave* yaitu pada suhu 150 °C dengan kadar gula pereduksi sebesar 25,3 g/L dan konsentrasi H_2SO_4 optimum pada 5% dengan kadar gula pereduksi sebesar 32,8 g/L. Uji kualitatif dari hasil fermentasi dan distilasi menunjukkan pada sampel mengandung bioetanol yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna kalium dikromat dari warna jingga menjadi hijau kebiruan. Kadar bioetanol yang diperoleh dengan metode berat jenis sebesar 5% dan 6,08% dari analisa dengan kromatografi gas.

Keywords:

barley dregs;
bioethanol;
fermentation;
hydrolysis;
microwave.

ABSTRACT. Pretreatment Effect of Barley Seed Dregs (*Setaria italica* L.) with Microwave Irradiation for Bioethanol Production. Renewable energy production, including bioethanol, is an alternative to fossil fuels. One of the alternative sources is barley dregs because it has a cellulose content of 32.41%; thus, it is very potential and economical as a new renewable energy source. This study aims to determine the surface morphology, temperature, and optimum H_2SO_4 concentration in the hydrolysis process using a microwave and the bioethanol content of the hydrolyzed barley seed dregs. The research comprised four steps: hydrolysis, fermentation, distillation, and qualitatively and quantitatively analysis of bioethanol levels using specific gravity and gas chromatography methods. Hydrolysis was carried out by varying the temperature of 75 °C, 100 °C, 125 °C, 150 °C, and 175 °C, and the concentration of H_2SO_4 was 0.5%, 1%, 2%, 5%, and 7%. The results showed that the surface morphology of the sample before hydrolysis had a flat, rough and rigid surface; however, after hydrolysis, the sample's surface became brittle and smooth. Analysis of reducing sugar using DNS reagent (dinitrosalicylate) obtained the optimum microwave temperature at 150°C with a reducing sugar content of 25.3 g/L and an optimum concentration of H_2SO_4 at 5% with a reducing sugar content of 32.8 g/L. The qualitative test of the fermentation and distillation results shows the samples containing bioethanol marked by the changes in potassium dichromate colors from orange to bluish-green. The bioethanol content obtained by the specific gravity method was 5% and 6.08% from analysis by gas chromatography.

PENDAHULUAN

Produksi energi terbarukan termasuk etanol menjadi alternatif penting untuk bahan bakar fosil. Produksi generasi pertama bahan bakar etanol dari bahan baku pati dikaitkan dengan potensi risiko persaingan industri pangan dan pakan. Solusi untuk masalah ini adalah produksi etanol dengan memanfaatkan biomassa lignoselulosa yang mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin. Selulosa yang ada di dalamnya adalah biopolimer yang paling melimpah di alam (Mikulski and Kłosowski, 2020). Perlakuan awal menggunakan *microwave* memiliki efisiensi pemanasan yang tinggi dan mudah diterapkan. Penelitian telah menunjukkan bahwa iradiasi *microwave* mengubah ultrastruktur selulosa limbah alga, waktu reaksi yang singkat, konsumsi energi yang rendah meningkatkan efisiensi dan efektifitas reaksi (Maceiras et al., 2021).

Penelitian Kolo *et al.* (2020) melaporkan bahwa tingginya kadar selulosa yang diperoleh dari proses perlakuan awal rumput gajah menunjukkan bahwa proses delignifikasi basa dengan teknik *microwave* berhasil merusak ikatan struktural antara lignin dan karbohidrat dan melepaskan selulosa bebas ke dalam larutan. Kandungan selulosa dan hemiselulosa menurun setelah hidrolisis asam, karena iradiasi *microwave* juga akan memecah ikatan glikosidik dari selulosa atau ikatan 1,4-D-piranosil dari hemiselulosa menghasilkan monosakarida (glukosa dan xilosa). Yoricya *et al.* (2016) melaporkan bahwa perlakuan awal konvensional 30 g tandan kosong kelapa sawit menghasilkan 10 g selulosa. Sementara itu, perlakuan awal komponen lignoselulosa pada 100 g rumput gajah menghasilkan 52,6 g selulosa. Penggunaan *microwave* dapat mengubah pati menjadi gula dalam waktu yang relatif rendah dan laju reaksi meningkat 100 kali dibandingkan dengan pemanasan konvensional (Kolo *et al.*, 2020).

Saat ini, jiwawut telah banyak dimanfaatkan bijinya oleh masyarakat sebagai bahan pangan. Hal ini dikarenakan biji jiwawut banyak mengandung nutrisi dan sangat layak untuk dikonsumsi oleh manusia sehingga jika biji jiwawut dipakai untuk produksi bioetanol, akan berdampak buruk bagi penyediaan kebutuhan bahan pangan. Solusinya, menggunakan ampas jiwawut dikarenakan kandungan karbohidratnya yang tinggi sehingga dapat dijadikan sebagai bahan bakar ramah lingkungan (Hildayanti, 2012). Berdasarkan penelusuran literatur oleh peneliti diketahui bahwa penelitian mengenai produksi bioetanol dari jiwawut (*Setaria italica* L.) saat ini baru diteliti oleh (Putra *et al.*, 2017) menggunakan biji jiwawut melalui metode hidrolisis enzimatis. Hasil penelitian menunjukkan kadar gula pereduksi hasil hidrolisis sebesar 401,89 ppm dan kadar bioetanol hasil fermentasi sebesar 88% menggunakan piknometer (berat jenis) dan sebesar 93,09% dari hasil analisis menggunakan kromatografi gas (Putra *et al.*, 2017). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan produksi bioetanol menggunakan ampas biji jiwawut sehingga tidak bersaing dengan ketersediaan bahan pangan.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kondisi optimum pada proses hidrolisis menggunakan iradiasi *microwave* untuk mendapatkan kadar gula pereduksi tertinggi dan kadar bioetanol menggunakan ampas biji jiwawut. Penelitian diawali dengan perlakuan awal hidrolisis melalui optimasi suhu hidrolisis dan variasi konsentrasi H₂SO₄ menggunakan *microwave*, hidrolisat yang dihasilkan selanjutnya difermentasi menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*, lalu distilasi dan dianalisis kadar bioetanol secara kualitatif maupun kuantitatif menggunakan metode berat jenis dan kromatografi gas.

METODE PENELITIAN

Bahan kimia dalam penelitian ini adalah ampas biji jiwawut, ragi *Saccharomyces cerevisiae*, H₂SO₄ (Merck, 96%), akuades, *Yield Extract Agar* (YEA), pepton, alkohol 70%, MgSO₄ (Merck), (NH₄)₂SO₄ (Merck), K₂Cr₂O₇ (Merck), NaOH (Merck) dan C₆H₁₂O₆ (Merck). Peralatan dalam penelitian ini yakni peralatan gelas, kawat ose, pengaduk magnetik, tabung flakon ukuran 15 mL, neraca analitik (*Mettler Toledo AG 204, USA dan OHAUS Portable advance*), pH meter (*Thermo Orion model 710 A+*), *autoclave* (*Sturdy SA-232 X*), *Microwave* (*Type KBO-350RA*), Spektrofotometer UV-Vis, seperangkat alat distilasi bertingkat, GC-FID dan instrumen *Scanning Electron Microscope* (SEM) (*ZEISS ECO MA10*).

Preparasi Sampel Ampas Biji Jiwawut

Biji jiwawut yang diperoleh dari Kabupaten Malaka dipisahkan dari pengotor dan dijemur di bawah sinar matahari, selanjutnya digiling menggunakan lumpang dan alu. Serbuk biji jiwawut yang telah digiling kemudian diayak dengan ayakan ukuran 35 *mesh* diperoleh serbuk biji jiwawut dengan ukuran seragam (ampas).

Hidrolisis Ampas Biji Jiwawut dengan Perlakuan *Microwave*

Serbuk (ampas) biji semawut sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 mL kemudian ditambahkan larutan H₂SO₄ 2% sebanyak 250 mL. Selanjutnya larutan ini dipanaskan menggunakan *microwave* selama 30 menit dengan variasi suhu 75 °C, 100 °C, 125 °C, 150 °C, dan 175 °C. Larutan hasil hidrolisis selanjutnya disaring menggunakan kertas saring dan diperoleh residu serta filtrat. Filtrat diambil untuk analisis gula pereduksi dengan metode DNS. Hasil optimum variasi suhu hidrolisis selanjutnya dipakai untuk variasi konsentrasi H₂SO₄ yakni 0,5%, 1%, 2%, 5% dan 7%. Analisis ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis sedangkan residunya diambil untuk dilihat teksturnya menggunakan SEM. Hasil gula pereduksi optimum pada variasi suhu hidrolisis dan konsentrasi H₂SO₄ selanjutnya dipakai sebagai hidrolisat pada proses fermentasi.

Pembuatan Media Inokulum

S. cerevisiae dari stok diinokulasi pada 50 mL medium (glukosa 10 g/L; *yeast extract* 0,1 g/L; KH_2PO_4 0,1 g/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/L dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1 g/L) dalam erlenmeyer, lalu diinkubasi selama 48 jam menggunakan *shaker* pada suhu ruang.

Pembuatan Media Fermentasi

Komposisi medium fermentasi adalah glukosa 10 g/L; *yeast extract* 0,1 g/L; KH_2PO_4 0,1 g/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/L dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1 g/L sebanyak 50 mL.

Proses Fermentasi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae*

Proses fermentasi dilakukan secara anaerob menggunakan fitrat hasil hidrolisis yang memiliki kadar gula pereduksi paling tinggi menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Hidrolisat serbuk ampas biji jawawut terlebih dahulu dinetralkan lalu dimasukkan media fermentasi dan diautoklaf pada temperatur 121 °C selama 30 menit kemudian ditambahkan media inokulum yang sudah diautoklaf terlebih dahulu. Hidrolisat pada proses hidrolisis memiliki pH 2,1 sehingga sebelum fermentasi diatur pada pH 4,5 menggunakan NaOH 2 M. Proses fermentasi dilakukan selama 5 hari.

Proses Distilasi

Hasil fermentasi kemudian dimurnikan menggunakan distilasi bertingkat. Etanol murni memiliki titik didih 78 °C dan air 100 °C sehingga pada suhu 78 °C etanol akan lebih dulu menguap dibandingkan dengan air. Uap etanol yang dihasilkan masuk ke kolom fraksinasi yang masih bercampur dengan sedikit air sehingga campuran itu akan menyentuh plat paling bawah. Pada kolom fraksinasi terjadi proses pengembunan menyebabkan air akan menetes turun kembali dan uap etanol yang memiliki titik didih lebih rendah akan naik dan mengalir melalui pipa pendingin (kondensor) sehingga terkondensasi menjadi etanol cair kembali (Bilyartinus and Siswanto, 2021). Selanjutnya dilakukan uji kadar etanol baik secara kualitatif menggunakan larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 2% dalam suasana asam dan secara kuantitatif menggunakan metode berat jenis dan instrumen *Gas Chromatography* (GC) (Windarti *et al.*, 2014).

Analisis Gula Pereduksi

Kadar gula pereduksi dianalisis menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis menggunakan reagen DNS (dinitrosalisilat). 1,75 mL pereaksi DNS ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 1,5 mL larutan standar glukosa (1000, 2000, 3000, 4000, 5000 ppm). Larutan standar dan sampel diinkubasi pada *waterbath* 100 °C selama 20 menit lalu didiamkan hingga suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm. Kadar gula pereduksi dihitung menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari pengukuran absorbansi variasi konsentrasi glukosa standar dengan [Persamaan 1](#).

$$y = ax + b \quad (1)$$

dimana x= kadar gula pereduksi dan y= absorbansi sampel.

Kadar biomassa sampel dapat dihitung menggunakan [Persamaan 2](#).

$$\text{Kadar Biomassa} = \frac{\text{Berat Biomassa (g)}}{\text{Volume Larutan (L)}} \quad (2)$$

Efisiensi hidrolisis (EH) dihitung menggunakan [Persamaan 3](#).

$$\text{EH}(\%) = \frac{[\text{Glukosa}]_{\text{g/L}}}{[\text{Biomassa}]_{\text{g/L}}} \times 100\% \quad (3)$$

Analisis Kualitatif Etanol

Uji kualitatif etanol hasil distilasi dilakukan dengan cara oksidasi Kalium Dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Disiapkan tabung reaksi lalu ditambahkan 2 mL $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 2%, 5 tetes H_2SO_4 pekat dan 1 mL sampel. Adanya etanol pada sampel ditandai dengan perubahan warna dari jingga menjadi hijau (Bahroni and Istianah, 2017).

Analisis Kuantitatif Etanol dengan Metode Berat Jenis (Windarti *et al.*, 2014)

Langkah pertama menimbang berat piknometer kosong diperoleh berat (a) gram, lalu menimbang berat piknometer yang telah terisi penuh akuades diperoleh berat (b) gram, setelah mendapatkan nilai a dan b dihitung volume piknometer dengan [Persamaan 4](#).

$$\text{Vol} = \frac{b-a}{0,996797} = c \text{ (mL)} \quad (4)$$

Setelah didapatkan volume piknometer (c) gram, langkah selanjutnya menimbang berat piknometer yang telah terisi penuh distilat bioetanol diperoleh berat (d) gram. Selanjutnya dihitung densitasnya dengan [Persamaan 5](#).

$$\text{Densitas} = \frac{d-a}{c} \quad (5)$$

Keterangan: a: berat piknometer kosong; b: berat piknometer terisi akuades; c: volume piknometer; d: berat piknometer terisi sampel.

Densitas yang diperoleh dari pengukuran menggunakan piknometer kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi etanol, rendemen (Y), dan efisiensi fermentasi (EF), dengan menggunakan [Persamaan 6 – 8](#).

$$\text{Konsentrasi Etanol Sampel (\%)} = \frac{\text{Luas Area Sampel}}{\text{Luas Area Standar}} \times \text{Konsentrasi Etanol Standar} \quad (6)$$

$$Y (\%) = \frac{\text{Konsentrasi Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)}{\text{Konsentrasi Gula Pereduksi } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)} \times 100 \quad (7)$$

$$EF (\%) = \frac{\text{Konsentrasi Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)}{0,51 \times \text{Konsentrasi Gula Pereduksi } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)} \times 100 \quad (8)$$

Analisis Kuantitatif Etanol dengan Kromatografi Gas (GC)

Kadar bioetanol ditentukan menggunakan *Gas Chromatography* (GC) Agilent 7890a dengan Detektor Ionisasi Nyala (GC-FID) ([Kolo et al., 2021](#)).

HASIL DAN PEMBAHASAN

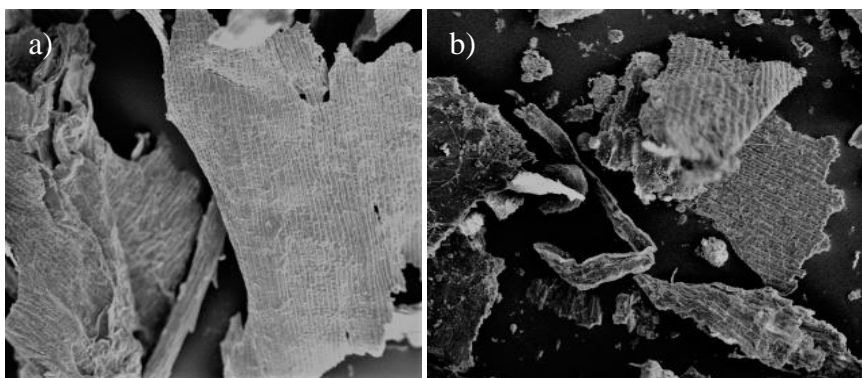
Produksi bioetanol dari ampas jiwawut cukup ekonomis karena yang digunakan bukan bahan pangan namun pemanfaatan ampas atau limbah. Konversi ampas biji jiwawut sangat potensial karena memiliki kandungan selulosa sebesar 32,41% yang dapat dikonversi menjadi glukosa sebagai substrat fermentasi menjadi etanol. Hal ini juga diperkuat dengan program Pemerintah Provinsi Nusa Tenggara Timur melalui BKKBN yang berkolaborasi dengan akademisi melakukan kampanye dan upaya menurunkan angka *stunting* dengan inovasi pangan lokal bergizi tinggi seperti Sorgum dan Jiwawut. Peningkatan budidaya dan produksi dari tanaman lokal ini akan menghasilkan limbah yang sangat banyak seperti ampas biji Jiwawut.



Gambar 1. Biji dan ampas jiwawut (dokumentasi peneliti).

Morfologi Permukaan Ampas Biji Jiwawut

Analisa morfologi permukaan dari sampel ampas biji jiwawut dilakukan menggunakan alat SEM untuk mengetahui perubahan sifat fisik atau morfologi permukaan dari sampel ampas biji jiwawut sebelum dan sesudah hidrolisis ([Gambar 2](#)).



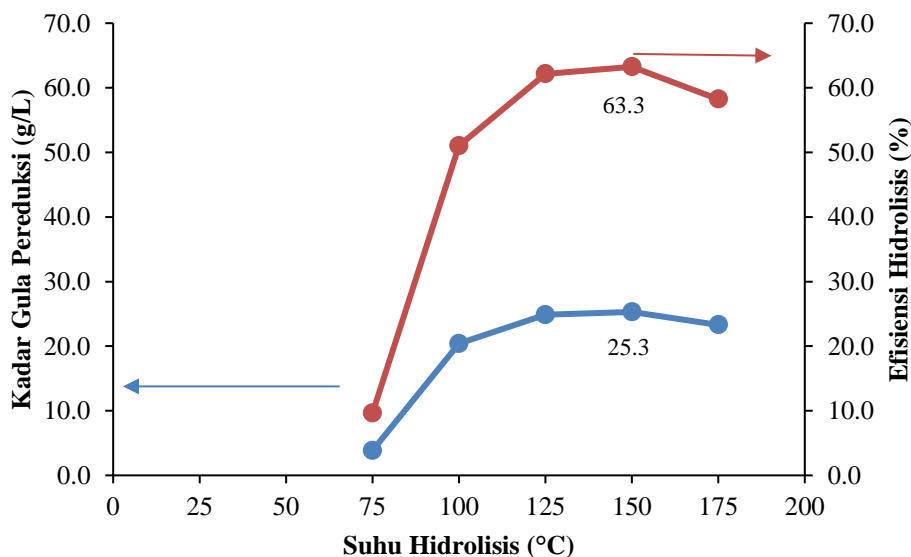
Gambar 2. Mikrograf SEM (a) sebelum dihidrolisis dan (b) sesudah dihidrolisis.

Hasil SEM pada [Gambar 2a](#) dapat terlihat bahwa ampas biji jowawut sebelum hidrolisis memiliki permukaan yang datar, kasar dan kaku. Hal ini berbeda dengan morfologi permukaan ampas biji jowawut setelah mengalami hidrolisis ([Gambar 2b](#)) yang mana struktur mengalami kerusakan sehingga terlihat rapuh dan hancur. Hal ini disebabkan karena penambahan asam sulfat (H_2SO_4) akan merusak struktur kristal dari selulosa, menghilangkan kandungan lignin dan menambah porositas dari sampel ([Zoghلامي and Paës, 2019](#)). Struktur kristal selulosa yang telah rusak akan memudahkan penguraian selulosa menjadi glukosa. Hal ini dapat terlihat pada [Gambar 2b](#) dimana struktur sampel memiliki ukuran yang lebih kecil dibanding sampel sebelum dihidrolisis dengan asam.

Hidrolisis Ampas Biji Jowawut dengan Variasi Suhu *Microwave* dan Konsentrasi Asam Encer (H_2SO_4)

Kulit biji jowawut ([Gambar 1](#)) yang telah dipisahkan, selanjutnya dihidrolisis untuk mengubah selulosa menjadi monomer-monomer gula (glukosa). Proses hidrolisis ampas biji jowawut menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) 2% dengan pemanasan menggunakan *microwave* selama 30 menit. Proses pemanasan dilakukan dengan variasi suhu *microwave* yaitu 75 °C, 100 °C, 125 °C, 150 °C, dan 175 °C.

Hasil hidrolisis pada [Gambar 3](#) memperlihatkan bahwa kadar gula pereduksi meningkat seiring tingginya suhu hidrolisis.



Gambar 3. Kadar gula pereduksi hasil hidrolisis melalui variasi suhu menggunakan *microwave*.

Data pada [Gambar 3](#) terlihat bahwa terjadi peningkatan suhu hidrolisis pada *microwave* dari suhu 75 – 150 °C dengan kadar gula pereduksi berkisar 3,86 – 25,30 g/L dan efisiensi hidrolisis dari 9,65% – 63,25% serta mengalami penurunan pada suhu hidrolisis 175 °C dengan kadar gula pereduksi dan efisiensi hidrolisis sebesar 23,30 g/L dan 58,25%. Kadar gula pereduksi tertinggi diperoleh pada suhu 150 °C yakni 25,30 g/L. Penyebab menurunnya kadar gula pereduksi karena suhu pemanasan terlalu tinggi sehingga gula mengalami karamelisasi yang ditunjukkan dengan adanya arang pada dinding erlenmeyer setelah proses pemanasan ([Kolo *et al.*, 2022b](#)).

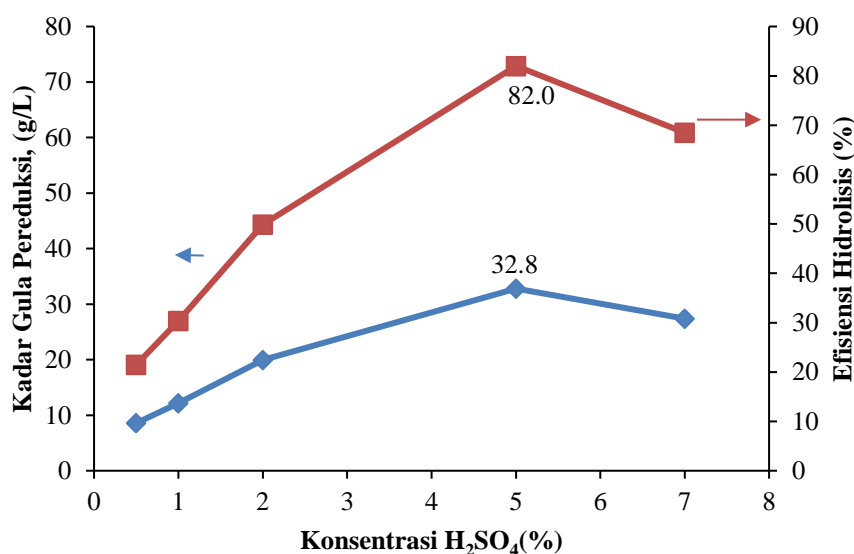
Selain itu juga glukosa mengalami degradasi menjadi hidroksimetilfurfural dan membentuk asam formiat sehingga menyebabkan kandungan glukosa dalam sampel menurun (Sadimo *et al.*, 2017). Penentuan kadar gula pereduksi pada suhu 150 °C dilakukan sebanyak 3 kali ulangan yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar gula pereduksi hasil pengulangan proses hidrolisis pada suhu 150 °C.

Ulangan	Absorbansi	Kadar Gula Pereduksi (g/L)	EH (%)	Rata-rata (g/L)	SD
1	0,226	25,30	63,3	24,8	0,54
2	0,223	24,97	62,4		
3	0,216	24,24	60,6		

Keterangan: SD: Standar Deviasi.

Suhu optimum 150 °C selanjutnya dipakai untuk variasi konsentrasi asam H₂SO₄ yakni 0,5%, 1%, 2%, 5% dan 7% yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 4. Kadar gula pereduksi hasil hidrolisis menggunakan *microwave* pada berbagai konsentrasi H₂SO₄.

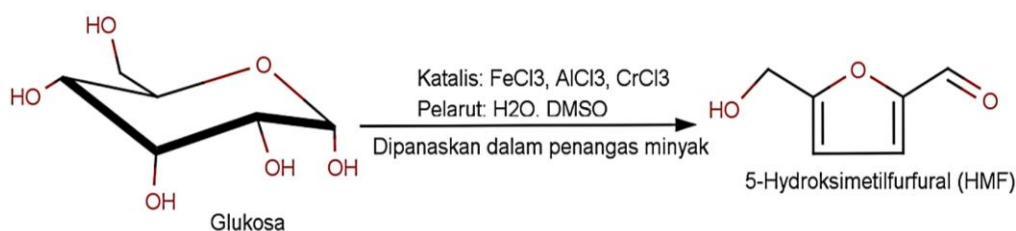
Berdasarkan hasil hidrolisis pada Gambar 4, dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi asam, hasil gula pereduksi semakin meningkat seperti yang ditampilkan dari konsentrasi 0,5 % – 5 % yaitu 8,6 – 32,8 g/L tetapi konsentrasi asam yang terlalu tinggi juga akan mempengaruhi hasil gula pereduksi yaitu pada konsentrasi asam 7 % dengan kadar gula pereduksi menurun menjadi 27,4 g/L. Hal ini disebabkan oleh sebagian produk dikonversi menjadi senyawa sekunder seperti furfural dan hidroksimetilfurfural (HMF) (Zhou *et al.*, 2017). Zhou *et al.* (2017) membuktikan bahwa gugus aldehida pada glukosa dalam konformasi terbuka diubah menjadi gugus keton sehingga mengalami isomerisasi membentuk fruktosa. Selanjutnya, tiga molekul air dikeluarkan dari fruktosa untuk membentuk HMF (Gambar 5). Selain itu, rendahnya konsentrasi asam juga dapat mengurangi penggunaan zat berbahaya dan penghematan penggunaan reagen kimia. Kadar gula pereduksi optimum sebesar 32,8 g/L pada konsentrasi H₂SO₄ 5% dengan waktu hidrolisis 30 menit pada suhu 150 °C. Penentuan kadar gula pereduksi pada konsentrasi H₂SO₄ 5% dilakukan sebanyak 3 kali ulangan yang ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil ini selanjutnya dipakai sebagai hidrolisat dalam produksi bioetanol.

Tabel 2. Kadar gula pereduksi hasil pengulangan proses hidrolisis pada konsentrasi H₂SO₄ 5%.

Ulangan	Absorbansi	Kadar Gula Pereduksi (g/L)	EH (%)	Rata-Rata (g/L)	SD
1	0,482	32,8	81,90	31,2	1,37
2	0,456	30,8	76,90		
3	0,448	30,1	75,37		

Penelitian sebelumnya menggunakan rumput gajah, hidrolisis asam dengan variasi konsentrasi asam H₂SO₄ yang sama dihasilkan gula pereduksi terbaik pada konsentrasi asam 2% selama 30 menit pada suhu 95 °C yaitu

26,63 g/L (Kolo *et al.*, 2020). Perbedaan kadar gula pereduksi ini karena adanya perbedaan kadar selulosa sebelum dihidrolisis yakni 29,9% selulosa pada rumput gajah dan 32,41% selulosa pada jiwawut (Bangoura *et al.*, 2011). Selain itu, tekstur serbuk batang rumput gajah yang berserat menjadi kendala saat hidrolisis dibandingkan dengan serbuk kulit biji jiwawut yang lebih halus dan mudah diakses oleh pelarut maupun katalis.



Gambar 5. Konversi glukosa menjadi 5-hidroksimetilfurfural (HMF).

Fermentasi Hidrolisat Ampas Biji Jewawut

Proses fermentasi dalam penelitian ini menggunakan hidrolisat ampas biji jiwawut sebagai substrat menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* secara anaerob (tanpa oksigen). Ragi *Saccharomyces cerevisiae* adalah ragi yang dapat mengubah glukosa menjadi etanol pada kondisi netral atau sedikit asam menggunakan jalur glikolisis (Purba *et al.*, 2016). Nutrisi yang ditambahkan pada media fermentasi yakni Ammonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) sebagai sumber nitrogen yang selanjutnya difermentasi selama 5 hari. Penambahan ammonium sulfat dalam media fermentasi mampu meningkatkan pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi jika dibandingkan dengan nutrisi sumber nitrogen lainnya (Arifwan *et al.*, 2016). Tingkat keasaman (pH) berpengaruh terhadap kualitas etanol dan kadar etanol tertinggi yakni 4,5 dimana konsentrasi kinerja glukosa dan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sangat optimum pada pH 4,5 sampai menghasilkan kadar etanol sebesar 5,6%. Penggunaan pH ini disebabkan karena ragi *Saccharomyces cerevisiae* dapat hidup dan bertumbuh dengan baik pada kondisi pH 4 – 5 (Angraini *et al.*, 2017). Hal ini diperkuat dengan penelitian Phuong and Huu (2014) yang menyatakan bahwa pH alami (4,66) media molase menghasilkan konsentrasi etanol maksimal setelah 5 dan 7 hari fermentasi (masing-masing 3,81% dan 3,90% b/v) dan menurun pada pH 6 dengan konsentrasi etanol terendah setelah 3 hari fermentasi (1,87% b/v). Saat pH menurun dari 6 menjadi 4,66, konsentrasi etanol meningkat, tetapi ketika pH turun menjadi 4, konsentrasi etanol menurun.

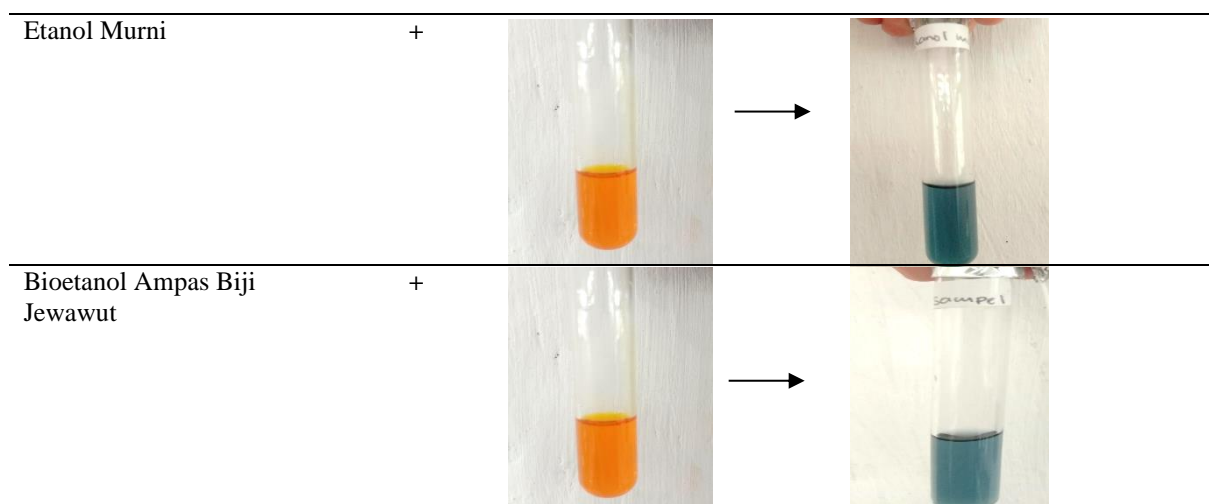
Hasil fermentasi ampas biji jiwawut selanjutnya didistilasi pada suhu 80 °C untuk memisahkan etanol dari campurannya pada sampel hasil fermentasi. Etanol akan menguap terlebih dahulu karena memiliki titik didih yang lebih rendah yaitu 78,3 °C jika dibandingkan dengan senyawa lain seperti air yang memiliki titik didih 100 °C (Sadimo *et al.*, 2017). Hasil penelitian Bilyartinus and Siswanto. (2021) menggunakan distilasi sederhana menunjukkan rasio ragi *B. subtilis* dan *S. cerevisiae* (10:5) menghasilkan kadar bioetanol tertinggi (6%) dalam 6 hari. Produksi bioetanol dari ampas sorgum menggunakan distilasi bertingkat menghasilkan kadar bioetanol sebesar 9,05% (Kolo *et al.*, 2022b). Hasil penelitian Ansar *et al.* (2021) menghasilkan kadar etanol nira aren sebelum distilasi adalah 32,3% dan meningkat menjadi 75,6% setelah melalui distilasi bertingkat.

Analisis Kualitatif Bioetanol

Analisis kualitatif dilakukan untuk membuktikan adanya etanol hasil fermentasi menggunakan larutan kalium dikromat (K₂Cr₂O₇). Prinsipnya adalah reaksi redoks yang terjadi antara etanol dengan K₂Cr₂O₇ dalam suasana asam. Uji positif adanya etanol pada sampel hasil fermentasi dibuktikan dengan berubahnya warna kalium dikromat dari jingga menjadi hijau kebiruan (Kolo *et al.*, 2022b). Hasil uji kualitatif menggunakan senyawa K₂Cr₂O₇ dalam penelitian ini membuktikan adanya etanol yang terdapat pada hasil distilasi sampel jiwawut. Hasil uji etanol murni dan bioetanol dari jiwawut disajikan pada Tabel 3.

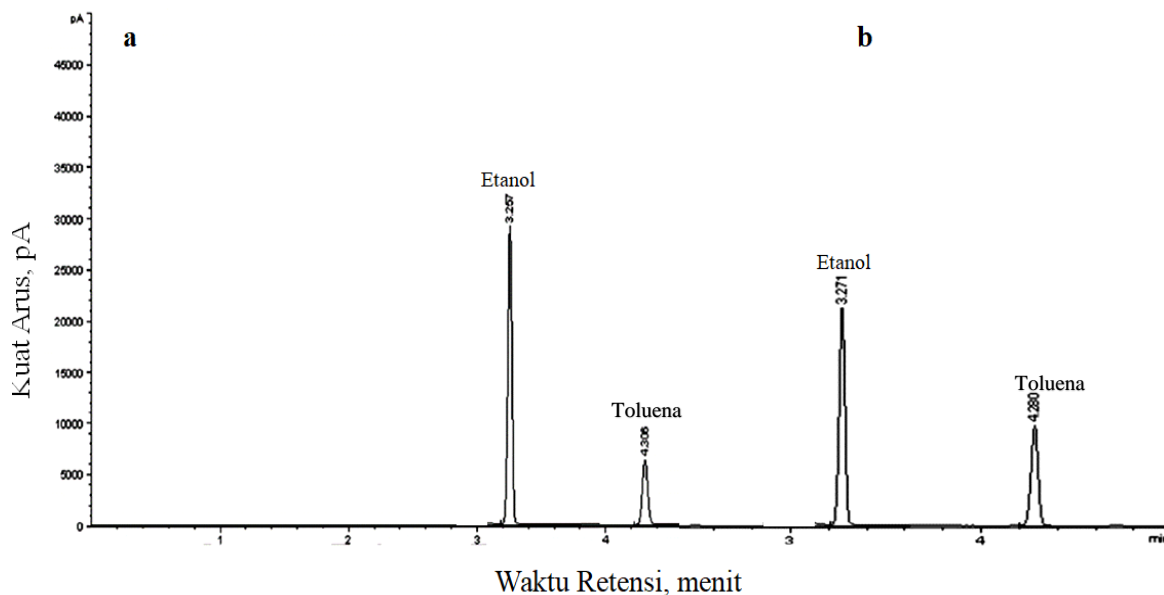
Tabel 3. Hasil uji kualitatif menggunakan senyawa kalium dikromat (K₂Cr₂O₇).

Sampel	Hasil Uji	Gambar
--------	-----------	--------



Analisis Kuantitatif Bioetanol

Analisis kuantitatif kadar bioetanol dalam sampel ampas biji jewawut dilakukan dengan menggunakan metode berat jenis kromatografi gas (GC). Analisis menggunakan GC dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya etanol yang dihasilkan dari proses fermentasi. Analisis menggunakan GC, diperlukan senyawa tambahan sebagai standar internal agar terjadi pemisahan sempurna antara *peak* sampel sehingga pengukuran kadar senyawa tidak dipengaruhi oleh senyawa lain (Solikha, 2017). Senyawa yang digunakan sebagai standar internal dalam penelitian ini adalah toluena. Toluena dipilih sebagai standar internal karena memiliki rumus molekul yang mirip dengan rumus molekul dari etanol. Adanya kemiripan tersebut maka kelarutan diantara kedua larutan pun mudah diketahui berdasarkan prinsip *like dissolve like* (Solikha, 2017). Pola/profil kromatogram dari etanol standar dan hasil fermentasi dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kromatogram dari Etanol Standar (a) dan Hasil Fermentasi (b)

Kromatogram pada Gambar 6 mengandung 2 puncak dengan waktu retensi yang berbeda yaitu pada waktu retensi 3,271 menit dan 4,280 menit dimana senyawa yang keluar atau menguap sebagai peak terlebih dahulu yakni senyawa etanol kemudian diikuti dengan toluena. Peak dari senyawa etanol keluar lebih dahulu karena memiliki titik didih yang paling rendah (78,3 °C) dibandingkan toluena (110,6 °C) (Kolo *et al.*, 2022a). Hal ini disebabkan karena komponen campuran dalam sampel akan terpisah/keluar sesuai titik didih tiap senyawa. Komponen dengan

titik dididih terendah akan menguap terlebih dahulu sehingga akan keluar sebagai peak pertama pada kromatogram (Solikha, 2017).

Kromatogram yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung kadar bioetanol dalam sampel yang dengan membandingkan luas area dari puncak etanol dengan luas area dari standar. Kadar bioetanol dari pengujian menggunakan metode berat jenis dan analisis dengan GC serta perhitungan *yield* bioetanol dan efisiensi fermentasi dari sampel ampas biji jecawut disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4 dibawah, didapatkan kadar etanol yang diukur menggunakan metode berat jenis sebesar 5% dan analisis GC sebesar 6,08% dengan *yield* 19,08% serta efisiensi fermentasi sebesar 37,34%. Kandungan bioetanol pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Kolo *et al.* (2021) yakni hasil bioetanol 5,02% menggunakan metode yang sama. Namun, masih rendah dari penelitian (Putra *et al.*, 2017), menggunakan metode enzimatik dan fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* dari biji jecawut. Hasil penelitian didapatkan kadar bioetanol dengan metode berat jenis sebesar 88% dan kromatografi gas sebesar 93,09% (Putra *et al.*, 2017).

Tabel 4. Kadar dan *yield* bioetanol serta efisiensi fermentasi dari sampel ampas biji jecawut.

Kadar Bioetanol (%)		Yield (%)	Efisiensi Fermentasi (%)
Metode Berat Jenis	Analisis GC		
5	6,08	19,08	37,34

Rendahnya kadar bioetanol pada penelitian ini disebabkan oleh beberapa faktor yakni belum optimal perubahan molekul glukosa menjadi etanol dan juga karena pada saat proses hidrolisis menggunakan asam biasanya terbentuk senyawa hidrosimetilfurfural (HMF) dimana senyawa ini merupakan senyawa inhibitor yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam proses fermentasi. Adanya kontaminan seperti bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat pada proses fermentasi mampu menjadi inhibitor yang berakibat pada rendahnya kadar bioetanol (Arifwan *et al.*, 2016).

Hasil penelitian Ziaei *et al.* (2015) menunjukkan bahwa tanaman jecawut berpotensi diproduksikan sebagai energi terbarukan dalam hal energi konsumen (49800,87 MJ/ha), efisiensi energi (1,94), produktivitas energi (0,066 kg/MJ), energi spesifik (15,14 MJ/kg) dan energi bersih (24145,07 MJ/ha). Tanaman jecawut mampu untuk bertahan hidup sampai dengan tingkat kekeringan yang mencapai > -30 MPa sehingga jecawut mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai salah satu komoditas pertanian lahan kering yang ditanam secara massal di Nusa Tenggara Timur (NTT) (Rini, 2018). Kandungan karbohidrat biji jecawut yang tinggi mencapai 67% berpotensi untuk mengatasi persoalan *Stunting* di NTT dan ampas/kulit biji jecawut dapat diolah menjadi bioetanol sebagai energi terbarukan. Hal ini menguntungkan secara ekonomis karena tidak adanya persaingan secara ekonomi konversi tanaman jecawut sebagai pangan maupun energi.

KESIMPULAN

Kadar gula pereduksi optimum diperoleh pada suhu 150 °C sebesar 25,3 g/L. Hasil hidrolisis melalui variasi konsentrasi asam diperoleh kadar gula pereduksi tertinggi sebesar 32,8 g/L pada konsentrasi H₂SO₄ 5%. Proses fermentasi ampas biji jecawut menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* selama 5 hari dan distilasi pada suhu 80 °C diperoleh kadar bioetanol sebesar 5% dari hasil analisa berat jenis dan 6,08% dari hasil analisa kromatografi gas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada LPPM Universitas Timor yang telah mendukung berupa dana penelitian. Terima kasih kepada Laboratorium Kimia Universitas Timor dan UPT Laboratorium Kimia Universitas Katolik Widya Mandira Kupang, Laboratorium Kimia ITS Surabaya serta Laboratorium PT. Gelora Djaja Surabaya dan semua pihak yang berkontribusi selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, A., Yuningsih, S., and Sota, M.M., 2017. Pengaruh PH Terhadap Kualitas Produk Etanol. *J. Reka Buana*, 2, 99–105.
- Ansar, Nazaruddin, Azis, A.D., and Fudholi, A., 2021. Enhancement of Bioethanol Production from Palm Sap (*Arenga Pinnata* (Wurmb) Merr) through Optimization of *Saccharomyces Cerevisiae* as an Inoculum.

- Journal of Materials Research and Technology*, 14, 548–554. doi: 10.1016/j.jmrt.2021.06.085.
- Arifwan, Erwin, and Kartika, R., 2016. Pembuatan Bioetanol Dari Singkong Karet (Manihot Glaziovii Muell) Dengan Hidrolisis Enzimatis Dan Difermentasi Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae. *Jurnal Atomik*, 01, 10–12.
- Bahroni and Istianah, 2017. Pemanfaatan Buah Berenuk (Crescentia Cujete Linn) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol. *Uin Syarif Hidayatullah Jakarta*, 1–7. doi: 10.17605/OSF.IO/2KXCV.
- Bangoura, M.L., Ming, Z.H., Nsor-Atindana, J., Xue, Z.K., Tolno, M.B., and Wei, P., 2011. Extraction and Fractionation of Insoluble Fibers from Foxtail Millet (Setaria Italica (L.) P. Beauv). *American Journal of Food Technology*,. doi: 10.3923/ajft.2011.1034.1044.
- Bilyartinus, G., and Siswanto, A.P., 2021. The Effect of Bacillus Subtilis on Bioethanol Production from Ambon Banana (Musa Paradisiaca Var. Sapientum Linn) Peels by Using Fermentation Process. *Journal of Vocational Studies on Applied Research*, 3, 26–30. doi: 10.14710/jvsar.v3i2.11081.
- Purba, D.E.H., Suprihatin, I.E., and Laksmiwati, A.A.I.A.M., 2016. Pembuatan Bioetanol Dari Kupasan Kentang (Solanum Tuberosum L.) Dengan Proses Fermentasi. *Jurnal Kimia*, 10, 155–160. doi: 10.24843/jchem.2016.v10.i01.p21.
- Hildayanti, 2012. Studi Pembuatan Flakes Jewawut (Setaria italica). *Skripsi*.
- Kolo, S.M.D., Obenu, N.M., and Tuas, M.Y.C., 2022a. Pengaruh Pretreatment Makroalga Ulva Reticulata Menggunakan Microwave Irradiation Untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Kimia*, 16, 212. doi: 10.24843/jchem.2022.v16.i02.p12.
- Kolo, S.M.D., Pardosi, L., and Baru, A.E., 2022b. The Effect of Hydrolysis Time Using Microwave on Bioethanol Production from Sorghum Waste (Sorghum Bicolor L.). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 16, 28. doi: 10.20527/jstk.v16i1.11404.
- Kolo, S.M.D., Presson, J., and Amfotis, P., 2021. Produksi Bioetanol Sebagai Energi Terbarukan Dari Rumput Laut Ulva Reticulata Asal Pulau Timor. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17, 159. doi: 10.20961/alchemy.17.2.45476.159-167.
- Kolo, S.M.D., Wahyuningrum, D., and Hertadi, R., 2020. The Effects of Microwave-Assisted Pretreatment and Cofermentation on Bioethanol Production from Elephant Grass. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1–11. doi: 10.1155/2020/6562730.
- Maceiras, R., Alfonsín, V., Seguí, L., and González, J.F., 2021. Microwave Assisted Alkaline Pretreatment of Algae Waste in the Production of Cellulosic Bioethanol. *Energies*, 14, 1–10. doi: 10.3390/en14185891.
- Mikulski, D., and Kłosowski, G., 2020. Microwave-Assisted Dilute Acid Pretreatment in Bioethanol Production from Wheat and Rye Stillages. *Biomass and Bioenergy*, 136, 1–9. doi: 10.1016/j.biombioe.2020.105528.
- Phuong, N.T., and Huu, N., 2014. Study on Ethanol Fermentation Conditions from Molasses by Thermo-Tolerant Yeasts. *International Journal of Business and Applied Science* www.ibasnet.com, 1, 13–22.
- Putra, I.W.A.P., Kartika, R., and Panggabean, A.S., 2017. Pembuatan Bioetanol Dari Biji Jewawut (Setaria Italica) Dengan Proses Hidrolisis Enzimatis Dan Fermentasi Oleh Saccharomyces cerevisiae. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14, 77–83.
- Rini, D.S., 2018. Potensi Akses Lokal Jewawut (Setaria Italica (L.) P. Beauv) Sebagai Pangan Alternatif Di Lahan Kering Pulau Sumba NTT. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek III*, 2010, 558–564.
- Sadimo, M.M., Said, I., and Mustapa, K., 2017. Pembuatan Bioetanol Dari Pati Umbi Talas (Colocasia Esculenta [L] Schott) Melalui Hidrolisis Asam Dan Fermentasi. *Jurnal Akademika Kimia*, 5, 79. doi: 10.22487/j24775185.2016.v5.i2.8016.
- Solikha, D.F., 2017. Analisis Kandungan P-Xilena Pada Pertamina Dan Pertamina Plus Dengan Teknik Kromatografi Gas (GC-PU 4600) Menggunakan Standar Internal. *Jurnal Ilmiah Indonesia*, 2, 1–15.
- Windarti, A., Novia, and Rosmawati, 2014. Pembuatan Bioetanol Dari Jerami Padi Dengan Metode Ozonolisis-Simultaneous an Fermentation (SSF) –. *Jurnal Teknik Kimia*, 20, 38–48.
- Yoricya, G., Aisyah, S., Dalimunthe, P., Manurung, R., and Bangun, N., 2016. Kelapa Sawit Dalam Sistem Cairan Ionik. *Jurnal Teknik Kimia*, 5, 1–7.
- Zhou, C., Zhao, J., Yagoub, A.E.G.A., Ma, H., Yu, X., Hu, J., Bao, X., and Liu, S., 2017. Conversion of Glucose into 5-Hydroxymethylfurfural in Different Solvents and Catalysts: Reaction Kinetics and Mechanism. *Egyptian Journal of Petroleum*, 26, 477–487. doi: 10.1016/j.ejpe.2016.07.005.
- Ziaei, S.M., Mazlounzadeh, S.M., and Jabbar, M., 2015. A Comparison of Energy Use and Productivity of Wheat and Barley (Case Study). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14, 19–25. doi: 10.1016/j.jssas.2013.04.002.
- Zoghalmi, A., and Paës, G., 2019. Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting

Hydrolysis. *Frontiers in Chemistry*, 7, 1–11. doi: 10.3389/fchem.2019.00874.