



Artikel Penelitian

Pengaruh Perlakuan Awal Hidrolisis Ampas Sorgum (*Sorghum Bicolor* L.) terhadap Fermentasi untuk Produksi Bioetanol sebagai Energi Terbarukan

Stevanny Yulia Margarita Nggai¹, Sefrinus Maria Dolfi Kolo^{2*}, Yuni Sine³^{1,2}Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian, Universitas Timor, Kefamenanu, Indonesia, 85613³Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Universitas Timor, Kefamenanu, Indonesia, 85613**INFO ARTIKEL****Sejarah Artikel**

Diterima 04 Oktober 2021

Direvisi 22 Juni 2022

Tersedia online 13 Desember 2022

* Penulis korespondensi:
sefrichem@unimor.ac.id**ABSTRAK**

Bioethanol has been successfully produced from sorghum seed dregs (*Sorghum bicolor* L.) as a biofuel substitute for fossil fuels. This study aimed to determine the optimum concentration of sulfuric acid in producing sugar content during hydrolysis using a microwave and autoclave. The hydrolysis step of sorghum dregs was suspended with H₂SO₄ solution with different concentrations, then hydrolyzed using a microwave (150°C, 30 min) and autoclave (1 atm, 121°C, 30 min). The concentration of sulfuric acid used was 0.5; 1; 2; and 5%. The fermentation stage uses *Saccharomyces cerevisiae* with an inoculum concentration of 8% for 5 days. Analysis of reducing sugar content using the DNS method, morphological analysis of sorghum pulp using SEM, determination of the specific gravity of ethanol using a pycnometer and ethanol content using GC. SEM analysis showed that sulfuric acid was able to damage the surface structure of the sorghum dregs which looked rough and not compact. The optimum yield of reducing sugars occurred in hydrolysis using a microwave with a concentration of 1% sulfuric acid of 44.97 g/L. The highest sugar yield through hydrolysis using an autoclave was 30.86 g/L at a concentration of 5% sulfuric acid. The ethanol content using a pycnometer was 1.96%. and GC which is equal to 15.76%.

Keywords: Sorghum dregs, microwave, autoclave, dilute sulfuric acid, bioethanol

Bioetanol telah berhasil diproduksi dari ampas biji sorgum (*Sorghum bicolor* L.) sebagai bahan bakar nabati pengganti bahan bakar fosil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi asam sulfat dalam menghasilkan kadar gula selama hidrolisis menggunakan microwave dan autoclave. Tahap hidrolisis ampas sorgum disuspensikan dengan H₂SO₄ encer dengan variasi yang berbeda, kemudian dihidrolisis menggunakan microwave (150 °C, 30 menit) dan autoklaf (1 atm, 121°C, 30 menit). Konsentrasi asam sulfat yang digunakan adalah 0,5; 1; 2; dan 5%. Tahap fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan konsentrasi inokulum 8% selama 5 hari. Analisis kadar gula pereduksi menggunakan UV-Vis dan analisis morfologi ampas sorgum menggunakan SEM, berat jenis etanol menggunakan piknometer dan kadar etanol menggunakan GC. Analisis SEM menunjukkan bahwa asam sulfat mampu merusak struktur permukaan ampas sorgum terlihat kasar dan tidak kompak. Hasil gula pereduksi optimum terjadi pada hidrolisis menggunakan microwave dengan konsentrasi asam sulfat 1% sebesar 44,97 g/L. Hasil gula tertinggi pada hidrolisis menggunakan autoclave dengan konsentrasi asam sulfat 5% yaitu sebesar 30,86 g/L. Kadar etanol menggunakan piknometer yaitu 1,96% dan GC yaitu sebesar 15,76%.

Kata kunci: Ampas Sorgum, Microwave, Autoclave, Asam Sulfat Encer, Bioetanol

1. Pendahuluan

Ketergantungan akan menggunakan bahan bakar fosil, berupa minyak bumi, gas bumi dan batu bara dapat menyebabkan berkurangnya cadangan sumber daya minyak bumi dan masalah perubahan iklim, di mana pada tahun 2017 konsumsi energi minyak di Indonesia dalam sektor transportasi mencapai total lebih dari 69% [1]. Hal ini menyebabkan pengeluaran atau emisi polusi karbon dioksida (CO_2) serta senyawa-senyawa berbahaya dari proses pembakaran bahan bakar fosil yang berdampak pada penipisan lapisan ozon. Cadangan energi fosil yang terbatas dan tidak dapat diperbarui ini, sudah seharusnya dilakukan antisipasi dengan berbagai upaya untuk mengurangi ketergantungan terhadap energi fosil tersebut. Beberapa peneliti telah mencari dan meneliti sumber-sumber energi alternatif yang bersifat ramah lingkungan seperti bioetanol [2].

Teknologi pengembangan bioetanol dari biomassa sebagai sumber bahan baku yang dapat diperbarui merupakan salah satu alternatif yang mempunyai nilai positif terhadap lingkungan serta mampu meningkatkan produksi etanol, efektifitas biaya, hemat energi dan berpengaruh secara signifikan terhadap meningkatnya bahan bakar untuk transportasi [3]. Produksi bioetanol dapat diklasifikasikan sebagai pati (jagung, singkong dan sorgum), gula sederhana (tebu dan bit gula), dan lignoselulosa (jerami, rumput gajah, limbah makanan). Produksi *biofuel* generasi pertama tidak berkelanjutan karena bersaing dengan penggunaan kultivasi makanan [4]. Solusi inovatif yang tepat yang harus dilakukan yaitu dengan memanfaatkan limbah makanan. Salah satu solusi alternatif yaitu ampas sorgum (*Sorgum bicolor* L.). Ketersediaan selulosa yang terdapat pada sorgum mencapai lebih dari 60% sehingga berpotensi untuk produksi bioetanol [5]. Rendemen dan kualitas bioetanol yang dihasilkan terutama ditentukan dari proses hidrolisis yang optimal. Selulosa akan dikonversi menjadi glukosa melalui proses hidrolisis sebagai proses lanjutan dari *pretreatment* lalu dikonversi menjadi etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* [6]. Proses konversi polisakarida menjadi etanol dilakukan melalui dua proses utama yaitu proses hidrolisis menggunakan asam encer atau enzim dan fermentasi menggunakan *S. cerevisiae*.

Beberapa penelitian telah dilakukan melalui proses hidrolisis asam menggunakan *microwave* dengan variasi optimasi konsentrasi asam encer maupun suhu. Iradiasi *microwave* diketahui lebih efisien dalam teknik nonkonvensional untuk mensintesis senyawa organik, karena iradiasi *microwave* mempunyai kontrol yang baik terhadap suhu yang tinggi dengan hasil yang didapatkan lebih tinggi [7]. Berdasarkan penelitian Kusumawati dan Kurnia [8], ampas sorgum yang dihidrolisis menggunakan asam klorida (HCl) 1% selama 100 menit menghasilkan konsentrasi glukosa sebanyak 135,66 g/L. Tahun 2018, Kolo dan Edi melaporkan bahwa kondisi optimum kadar gula pereduksi dari hidrolisis biji ampas sorgum menggunakan *microwave* pada konsentrasi H_2SO_4 0,5 N, suhu 200°C dan waktu hidrolisis 40 menit yaitu sebesar 42,71 mg/L [9]. Penelitian yang dilakukan El-Imam dkk melaporkan bahwa kadar glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis ampas sorgum menggunakan konsentrasi H_2SO_4 3% yaitu 34,53 g/L [10].

Deshavath dkk menyatakan bahwa pemanfaatan *autoclave* (pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm) untuk *pretreatment* ampas sorgum yang sangat signifikan degradasi xylan 89% dengan konsentrasi produk samping (furfural) yang lebih rendah [11]. Penelitian yang dilakukan oleh Rilek dkk dengan menggunakan bahan baku pelepah sawit yang dihidrolisis menggunakan *autoclave* pada konsentrasi H_2SO_4 0,6 M selama 100 menit dihasilkan gula total sebesar 10,70% dan gula reduksi pada sampel bahan hidrolisat sebesar 19,49% [12]. Hasil gula reduksi pada percobaan tersebut menunjukkan bahwa hidrolisis selulosa dan hemiselulosa dapat berlangsung dengan baik, meskipun persentase kenaikan tidak tinggi karena suhu *pretreatment*nya hanya sampai 121°C . Berdasarkan latar belakang tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan variasi konsentrasi asam dengan melakukan kombinasi metode hidrolisis yaitu menggunakan *autoclave* dan *microwave*. Hasil optimum pada proses hidrolisis akan dilanjutkan dengan proses fermentasi menggunakan *S. cerevisiae*. Hasil fermentasi dimurnikan dengan proses distilasi bertingkat dan dikarakterisasi secara kualitatif dan kuantitatif.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ampas sorgum, H_2SO_4 (Merck), NaOH (Merck), akuades, KH_2PO_4 (Merck), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck), NH_4SO_4 (Merck), glukosa, ekstrak ragi, media PDA (*Potato Dextro Agar*), kultur *S. Cerevisiae*, alkohol, pereaksi DNS (dinitrosalisilat), toluena, dan n-heksan.

2.2. Persiapan Bahan Baku

Biji sorgum digiling, kemudian diayak menggunakan ayakan ukuran 100 mesh, setelah mendapatkan bubuk ampas sorgum selanjutnya disimpan pada wadah dalam keadaan kering [9].

2.3. Hidrolisis Ampas Sorgum

Metode hidrolisis dikembangkan oleh Kolo dkk [13]. Sebanyak 10 g ampas sorgum dicampur asam sulfat dengan konsentrasi 0,5; 1; 2 dan 5% sebanyak 250 mL dan dipanaskan selama 30 menit pada suhu 150°C menggunakan *microwave*. Selanjutnya, dilakukan dengan perlakuan yang sama, tetapi menggunakan *autoclave* dengan pemanasan

121°C selama 30 menit. Hasil hidrolisis tersebut disaring, lalu filtratnya dianalisis gula pereduksi menggunakan metode dinitrosalisilat (DNS).

2.4. Pembuatan Media Biakan dan Peremajaan *S. cerevisiae*

Sebanyak 10 g PDA dilarutkan dengan akuades sebanyak 250 mL, lalu dihomogenkan terlebih dahulu menggunakan *magnetic stirrer* kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, larutan dituang ke dalam cawan petri setelah media dingin dan memadat, kemudian isolat *S. cerevisiae* dari stok kultur dipindahkan sebanyak 2 ose ke dalam media PDA, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. *S. cerevisiae* yang mengalami regenerasi digunakan untuk pembuatan inokulum.

2.5. Pembuatan Inokulum Fermentasi

Persiapan inokulum dilakukan dengan memasukkan 0,1 g/L ekstrak ragi, 10 g/L glukosa, KH_2PO_4 0,1 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/L dan NH_4SO_4 0,1 g/L lalu ditambahkan akuades sebanyak 50 mL dilarutkan pada erlenmayer. Kemudian, campuran disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah larutannya dingin, dimasukkan isolat *S. cerevisiae* sebanyak 4 ose dan dihomogenkan menggunakan *shaker* selama 2 hari [10].

2.6. Proses Fermentasi

Pada tahap fermentasi ini, substrat hasil hidrolisat sebanyak 150 mL diukur pHnya hingga 4, selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit setelah hidrolisat dingin, ditambahkan inokulum sebanyak 8% ke dalam 100 mL hidrolisat, diaduk selama 100 rpm dan ditempatkan pada *shaker*. Proses fermentasi berlanjut selama 5 hari [14]. Hasil fermentasi berupa etanol akan didistilasi menggunakan distilasi bertingkat untuk mendapatkan etanol murni.

2.7. Karakterisasi dan Analisis

2.7.1 Analisis Struktur Permukaan Sampel Menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM)

Residu dari hasil penyaringan dikeringkan dengan cara di oven selama 2 jam pada suhu 100°C. Kemudian, sampel serbuk sebelum dan sesudah dihidrolisis masing-masing diletakkan di atas tempat sampel dengan menggunakan isolasi *double-side*. Sampel kemudian dilapisi dengan emas dan dimasukkan ke dalam instrumen SEM. Perbesaran yang digunakan adalah 800 kali [15]. Proses *scanning* pantulan elektron dari tumbukan dengan sampel akan ditangkap atau dideteksi oleh *detector secondary electron* dan *backscattered electron* yang kemudian gambar struktur mikro dapat dilihat pada monitor.

2.7.2. Analisis Kadar Gula Pereduksi Menggunakan Metode Dinitrosalisilat (DNS)

Sampel sebanyak 1 mL dari masing-masing hasil hidrolisat ditambahkan 3 mL pereaksi DNS, lalu dipanaskan selama 5 menit dan didinginkan. Setelah itu, dilakukan pengenceran jika larutan terlalu pekat. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar gula pereduksi dihitung menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari pengukuran absorbansi variasi konsentrasi glukosa standar [16].

2.7.3. Analisis Kualitatif Etanol

Dua mililiter $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 2% dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes H_2SO_4 pekat, kemudian ditambahkan 1 mL etanol ke dalam tabung reaksi tersebut. Reaksi positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari jingga ke hijau kebiruan [17].

2.7.4. Analisis Etanol Menggunakan Piknometer

Piknometer yang kosong dan kering ditimbang menggunakan timbangan analitik sebagai W_1 , lalu piknometer diisi akuades dan ditutup. Piknometer dan akuades ditimbang, berat yang didapat yaitu W_2 . Berat akuades (W) dihitung dengan cara $W_2 - W_1$, selanjutnya etanol dimasukkan ke dalam piknometer kering lalu ditimbang sebagai W_3 . Berat etanol hasil fermentasi adalah $W_3 - W_1 = L$. Berat air (L) dihitung dengan *specific gravity* = L/W . Nilai *specific gravity* ditentukan menggunakan tabel AOAC (*Analysis of Association of Official Analytical Chemists*) dan selanjutnya persentase etanol dihitung [18]. Berat jenis etanol dihitung berat jenisnya menggunakan **Persamaan (1)**.

$$\rho_1 = \frac{W_1}{W_2} \times \rho_2 \quad (1)$$

Dimana, W_1 adalah berat etanol, W_2 adalah berat akuades, ρ_1 adalah berat jenis sampel, dan ρ_2 adalah berat jenis akuades.

2.7.5. Analisis Etanol Menggunakan Gas Chromatography (GC)

Etanol yang dihasilkan dianalisis menggunakan GC dengan pelarut toluena sebagai larutan standar internal, selanjutnya menyesuaikan suhu kolom pada suhu 100 °C selama 2 menit dan naik sampai 250°C selama 1 menit dengan kecepatan laju 5°C/menit selama 5 menit. Tingkat aliran gas pembawa hidrogen (H) selama 40 mL/menit. Larutan standar etanol disiapkan 10, 20, 30 dan 40 mL dan dimasukkan ke dalam *fask volumetric*. Sampel diambil sebanyak 2 µL dan diinjeksikan ke dalam kolom. Kadar etanol ditentukan dengan membandingkan luas area puncak pada kromatogram dengan luas area puncak larutan standar 10% [19]. Nilai berat jenis yang diperoleh dari hasil pengukuran menggunakan piknometer dan hasil analisis GC selanjutnya digunakan untuk menghitung konsentrasi etanol, rendemen/*yield* (Y), dan efisiensi fermentasi (EF) berturut-turut menggunakan **Persamaan (2)** dan **(3)**.

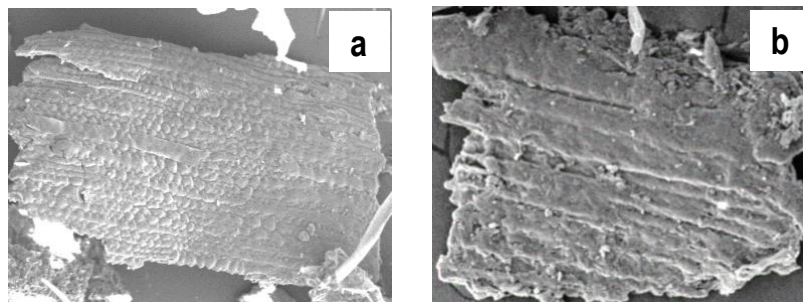
$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi Etanol (g/L)}}{\text{Kadar Gula (g/L)}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Efisiensi Fermentasi (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi Etanol (g/L)}}{0,51 \times \text{Kadar Gula (g/L)}} \times 100 \quad (3)$$

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Analisis Tekstur Permukaan menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM)

Hasil pengamatan menggunakan SEM (**Gambar 1.a**) menunjukkan bahwa morfologi permukaan dari bubuk ampas sorgum terlihat kaku dan menyatu sebelum dihidrolisis. Adapun pada **Gambar 1.b** mengindikasikan bentuk serat atau jaringan pada permukaan ampas sorgum terlihat rusak dan menjadi tidak kompak karena perlakuan oleh asam sulfat [13]. Hal ini menunjukkan bahwa asam sulfat mampu berperan memecah struktur hemiselulosa, selulosa serta mengubah bentuk dan ukuran ampas sorgum dalam proses hidrolisis, sehingga diharapkan dapat menghasilkan gula yang optimal.



Gambar 1. Morfologi ampas sorgum: (a) sebelum hidrolisis, (b) setelah hidrolisis

3.2. Kadar Gula Pereduksi

Kandungan glukosa tertinggi pada penelitian ini yaitu sebesar 44,97 g/L pada perlakuan waktu hidrolisis 30 menit dan suhu 150°C dengan konsentrasi asam sulfat 1% menggunakan *microwave* (**Tabel 1**). Pada konsentrasi asam sulfat 5%, gula pereduksi menurun menjadi 33,63 g/L sehingga terjadi penurunan kadar glukosa sekitar 11,34%. Hal ini menunjukkan bahwa dalam proses hidrolisis ampas sorgum pada penggunaan asam sulfat 1% mampu mendegradasi monomer gula secara sempurna dan meminimalkan penggunaan asam dan pembentukan inhibitor [20].

Tabel 1. Kadar Gula Pereduksi dengan Variasi Konsentrasi Asam

| Konsentrasi H ₂ SO ₄ (%) | Kadar Gula Pereduksi (g/L) | |
|--|----------------------------|------------------|
| | <i>Autoclave</i> | <i>Microwave</i> |
| 0,5 | 15,97 | 23,08 |
| 1 | 18,97 | 44,97 |
| 2 | 23,74 | 44,19 |
| 5 | 30,86 | 33,63 |

Hasil gula melalui metode hidrolisis konvensional menggunakan *autoclave* dianggap berbeda dengan menggunakan *microwave*, di mana kadar gula meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi asam sulfat yang diberikan pada hidrolisat ampas sorgum. Hasil tertinggi terjadi pada pemberian konsentrasi asam sulfat 5% yaitu sebesar 30,86 g/L. Berdasarkan penelitian Deshavath dkk, hidrolisis asam sulfat (0,2-1 M) menggunakan *autoclave* selama waktu 30-120 menit menghasilkan kadar gula sebesar 241,2 mg/L dengan persentase senyawa furfural 4,6 mg/L [11]. Tingginya kadar

gula pereduksi pada penelitian ini dibanding beberapa penelitian terdahulu karena perbedaan tekstur serbuk sampel dan kadar selulosa pada tiap sampel.

Hasil kadar gula pereduksi optimum dari hidrolisis menggunakan *microwave* dan *autoclave* berbeda secara signifikan. Hal ini terjadi karena pengaruh perbedaan prinsip kerja dari kedua alat yang digunakan dalam proses hidrolisis. Proses pemanasan menggunakan *microwave* dapat terkontrol dan juga dipengaruhi oleh paparan iradiasi yang mampu meningkatkan laju reaksi, sehingga mampu mempercepat reaksi degradasi selulosa menjadi glukosa serta mengurangi pembentukan senyawa furfural sebesar 74% [21]. Ketika ampas sorgum dihidrolisis menggunakan *autoclave*, proses pemanasan yang diperoleh hidrolisat ampas sorgum hanya 121°C dengan penggunaan suhu yang rendah tersebut maka diperlukan waktu hidrolisis yang lama, serta penggunaan konsentrasi asam sulfat yang tinggi yang berakibat penurunan kadar gula pereduksi. Oleh karena itu, dalam proses hidrolisis polisakarida tidak hanya suhu, tekanan, konsentrasi asam dan waktu yang diperlukan tetapi radiasi gelombang juga mampu mempengaruhi tinggi rendahnya kadar gula yang dihasilkan sehingga nilai kadar gula pereduksi menggunakan *microwave* lebih tinggi daripada nilai gula pereduksi menggunakan *autoclave*.

Murniati dkk mengungkapkan bahwa proses hidrolisis menggunakan asam encer selain mengkatalisator juga bersifat ramah lingkungan dan ekonomis. Penggunaan asam dengan konsentrasi tinggi akan mempengaruhi gula yang dihasilkan berubah menjadi senyawa furfural dan dapat menghambat proses fermentasi menjadi etanol [22]. Menurut Joshi dkk, hidrolisis ampas sorgum menggunakan asam encer, terkonsentrasi dan dengan suhu yang tinggi dapat menghasilkan glukosa yang cukup tinggi sebesar 50% [23]. Kolo dkk melaporkan hasil penelitian dengan menghidrolisis rumput gajah menggunakan *microwave* dengan konsentrasi asam sulfat 0,5; 1; 2; 5 dan 7% pada suhu 95°C selama 30 menit mendapatkan gula pereduksi sebesar 26,63 g/L dengan konsentrasi asam sulfat optimum 2% [13]. Hal ini menyatakan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi asam yang diberikan maka akan meningkatkan kadar gula pereduksi.

3.3. Analisis Kadar Etanol

Hasil optimasi pada proses hidrolisis menggunakan *microwave* diperoleh kadar gula pereduksi 44,97 g/L pada konsentrasi asam 1% pada suhu 150°C selama 30 menit. Kondisi optimum ini yang selanjutnya dilanjutkan ke proses fermentasi. Proses fermentasi dilakukan selama 5 hari dengan konsentrasi inokulum 8%. Hasil fermentasi dilakukan distilasi bertingkat untuk memisahkan etanol dari komponen lainnya. Hasil distilasi dikarakterisasi secara kualitatif menggunakan $K_2Cr_2O_7$ (Tabel 2) dan secara kuantitatif menggunakan piknometer (Tabel 3) dan GC (Tabel 4).

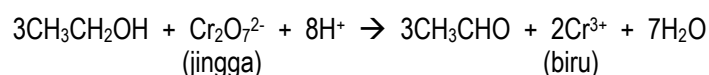
3.3.1. Analisis Kualitatif Etanol Menggunakan $K_2Cr_2O_7$

Analisis kualitatif etanol dilakukan untuk mengetahui adanya etanol pada hasil fermentasi ampas sorgum. Analisis kualitatif dilakukan secara kimia menggunakan pereaksi $K_2Cr_2O_7$. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada sampel. Perubahan warna tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji Kualitatif Etanol dengan Pereaksi Kalium Dikromat

| Jenis Sampel | Larutan Pereaksi | Hasil Uji | Keterangan |
|---------------|---|---|-------------------|
| Etanol Murni |  |  | Hasil positif (+) |
| Etanol Sorgum |  |  | Hasil positif (+) |

Tabel 2 menunjukkan bahwa ketika sampel hasil fermentasi ampas sorgum dicampurkan dengan larutan $K_2Cr_2O_7$ akan bereaksi positif yang ditandai dengan perubahan warna dari jingga menjadi hijau kebiruan. Hal ini terjadi karena proses oksidasi alkohol primer oleh $K_2Cr_2O_7$ menjadi aldehyd. Oksidasi secara fisik ditandai dengan perubahan warna yang disebabkan karena Cr^{6+} (jingga) tereduksi menjadi Cr^{3+} (biru) [24]. Reaksi perubahan warna adalah sebagai berikut:



3.3.2. Hasil Analisis Etanol Menggunakan Piknometer

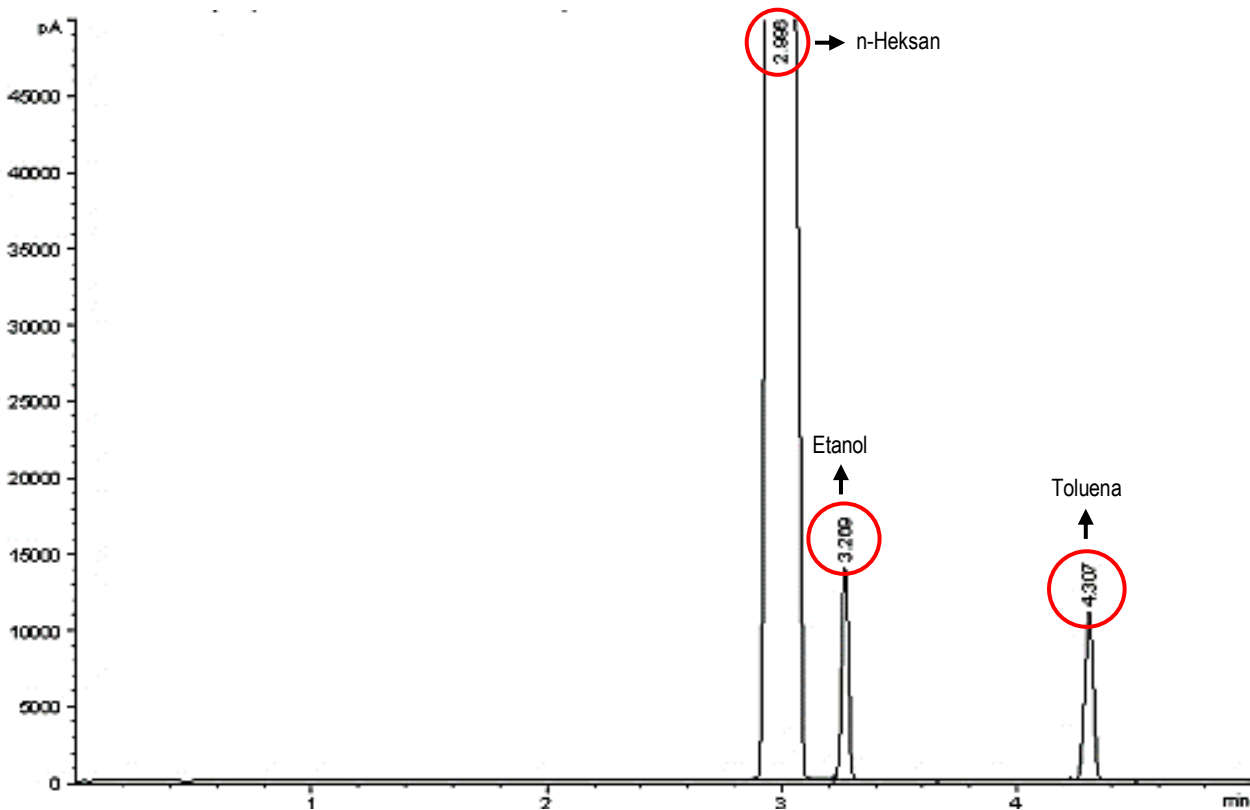
Tabel 3 menunjukkan hasil pengukuran berat jenis menggunakan piknometer adalah 0,99390 g/mL dengan *yield* etanol yaitu 1,96%. Hasil tersebut mempengaruhi nilai konsentrasi dan *yield* dari bioetanol. Jika berat jenis bioetanol lebih rendah maka kadar etanol yang dihasilkan lebih besar. Nilai berat jenis etanol yang rendah diprediksi terjadi karena pengaruh penggunaan jumlah ragi atau *yeast* yang tinggi dan waktu fermentasi yang lama sehingga mempengaruhi aktivitas mikroba untuk mengurai glukosa menjadi etanol.

Tabel 3. Parameter Uji Etanol Menggunakan Piknometer

| ρ Etanol (g/mL) | Konsentrasi Etanol (g/L) | Yield (%) | Efisiensi Fermentasi (%) |
|----------------------|--------------------------|-----------|--------------------------|
| 0,99390 | 0,884 | 1,96 | 3,85 |

3.3.3. Hasil Analisis Etanol Menggunakan Gas Chromatography (GC)

Analisis kuantitatif etanol dilakukan dengan membandingkan waktu retensi sampel etanol dengan menggunakan standar internal toluena dan n-heksan sebagai pelarut. Kromatogram pada **Gambar 2** menunjukkan bahwa terdapat 3 puncak pada sampel ampas sorgum, dimana pada waktu retensi 2,969 menit menunjukkan produk etanol, waktu retensi 4,307 menit adalah puncak standar internal toluena dan waktu retensi 2,996 menit adalah senyawa n-heksan yang digunakan sebagai pelarut.



Gambar 2. Kromatogram etanol dari ampas sorgum

Perbandingan dari waktu retensi dari etanol, toluena dan n-heksan pada kromatogram standar dan kromatogram etanol dari ampas sorgum tidak berbeda secara signifikan, dimana senyawa yang mempunyai sifat kepolaran dari suatu bahan pada fase diam yang ditempatkan pada kolom partisi akan bergerak lebih lambat daripada senyawa yang mempunyai perbedaan kepolaran pada bahan yang ada di kolom partisi tersebut [23]. Munculnya senyawa toluena pada waktu retensi yang lebih lama dipengaruhi dari interaksi fase diam dan titik didih dari senyawa tersebut. Titik didih dari n-heksan lebih rendah dari etanol dan toluena, sehingga senyawa n-heksan akan muncul terlebih dahulu, lalu diikuti dengan etanol dan toluena. Kinerja dari alat kromatografi gas dalam menganalisis sampel, tidak hanya dipengaruhi oleh waktu retensi melainkan dari sifat kepolaran, titik didih dan interaksi fase diam. Penentuan kadar etanol menggunakan GC yang dikondisikan dengan suhu kolom 100°C, suhu injektor 250°C dan suhu detektor 250°C sebagai suhu analisis untuk etanol. Apabila suhu terlalu tinggi menyebabkan pemisahan senyawa terlalu rapat, sedangkan apabila suhu terlalu rendah akan menyebabkan pemisahan senyawa secara terpisah dengan baik.

Tabel 4. Hasil Kuantitatif Etanol Menggunakan GC

| Kadar Etanol (%) | Konsentrasi Etanol (g/L) | Yield (%) | Efisiensi Fermentasi (%) | Standar Deviasi |
|------------------|--------------------------|-----------|--------------------------|-----------------|
| 15,76 | 15,34 | 34,11 | 67,28 | 0,09 |

Hasil kuantitatif kadar etanol menggunakan GC tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4**. Kadar etanol yang dihasilkan dari pengukuran dengan menggunakan GC adalah 15,76% dengan hasil efisiensi fermentasi sebesar 67,28%. Hasil analisis menggunakan GC menghasilkan etanol yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan piknometer. Hal ini terjadi karena pengukuran dengan piknometer menggunakan densitas campuran antara etanol dan air serta memiliki jarak waktu pemisahan yang lama [25], dibandingkan dengan pengukuran kadar etanol dengan menggunakan GC bekerja dalam waktu yang singkat dengan ketepatan pemisahan yang tinggi dan memiliki kolom yang panjang sehingga menghasilkan efisiensi pemisahan yang baik [26].

4. Kesimpulan

Hasil SEM menunjukkan asam sulfat mampu merusak struktur permukaan dinding ampas sorgum sehingga terlihat kasar dan tidak kompak dari kedua metode hidrolisis. Kadar gula pereduksi optimum ampas sorgum melalui hidrolisis pada suhu 150°C selama 30 menit menggunakan *microwave* diperoleh dengan pemberian asam sulfat 1%, yaitu sebesar 44,97 g/L, sedangkan kadar gula optimum menggunakan *autoclave* diperoleh dari pemberian asam sulfat 5% yaitu sebesar 30,86 g/L. Kadar etanol melalui analisis menggunakan piknometer yaitu 1,96% dan menggunakan kromatografi gas yaitu sebesar 15,76% dengan efisiensi fermentasi adalah 67,28%. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan optimasi pada proses hidrolisis menggunakan pelarut lainnya atau menggunakan hidrolisis enzimatis. Selain itu, perlu dilakukan variasi konsentrasi inokulum saat proses fermentasi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Laboratorium Faperta Universitas Timor, Laboratorium Pendidikan Biologi Universitas Timor, UPT Laboratorium Kimia Universitas Katolik Widya Mandira Kupang, Laboratorium Energi dan Lingkungan Universitas Sepuluh Nopember Surabaya dan Laboratorium PT. Gelora Djaja Surabaya yang telah membantu menganalisis sampel dan semua pihak yang telah membantu hingga terlaksananya penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Deendarlianto, A. Widyaparaga, B. M. Sopha, A. Budiman, I. Muthohar, I. C. Setiawan, A. Lindasista, J. Soemardjito, & K. Oka, "Scenarios Analysis of Energy Mix for Road Transportation Sector in Indonesia," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 70, pp. 13–23, 2017.
- [2] F. J. Davila-Gomez, C. Chuck-Hernandez, E. Perez-Carrillo, W. L. Rooney, & S. O. Serna-Saldivar, "Evaluation of Bioethanol Production from Five Different Varieties of Sweet and Forage Sorghums (*Sorghum bicolor* (L) Moench)," *Industrial Crops and Products*, vol. 33, no. 3, pp. 611–616, 2011.
- [3] V. V. Semenčenko, L. V. Mojović, A. P. Dukić-Vuković, M. M. Radosavljević, D. R. Terzić, & M. S. Milašinić Šeremešić, "Suitability of Some Selected Maize Hybrids from Serbia for the Production of Bioethanol and Dried Distillers' Grains with Solubles," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 93, no. 4, pp. 811–818, 2012.
- [4] J. Hill, E. Nelson, D. Tilman, S. Polasky, & D. Tiffany, "Environmental, Economic, and Energetic Costs and Benefits of Biodiesel and Ethanol Biofuels," *PNAS*, vol. 103, no. 30, pp. 11206–11210, 2006.
- [5] M.-H. Cheng, B. S. Dien, D. K. Lee, & V. Singh, "Bioresource Technology Sugar Production from Bioenergy Sorghum by Using Pilot Scale Continuous Hydrothermal Pretreatment Combined with Disk Refining," *Bioresource Technology*, vol. 289, no. 121663, 2019.
- [6] I. N. W. Putra, I. G. G. W. Kusuma, & I. N. S. Winajaya, "Proses *Treatment* dengan Menggunakan NaOCl dan H₂SO₄ untuk Mempercepat Pembuatan Bioetanol dari Limbah Rumput Laut *Eucheima cottonii*," *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin*, vol. 5, no. 1, pp. 64–68, 2011.
- [7] M. R. Ahmed, V. G. Sastry, N. Bano, S. Ravichandra, & M. Raghavendra, "Synthesis and Cytotoxic, Antioxidant Activities of New Chalcone Derivatives," *RASAYAN Journal of Chemistry*, vol. 4, no. 2, pp. 289–294, 2011.
- [8] E. Kusumawati & D. R. D. Kurnia, "Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Tepung Sorgum (*Sorghum Bicolor*, L Moench) secara Fermentasi Menggunakan Ragi Roti," *Fluida*, vol. 8, no. 1, pp. 8–12, 2012.
- [9] S. M. D. Kolo & E. Edi, "Hidrolisis Ampas Biji Sorgum dengan Microwave untuk Produksi Gula Pereduksi sebagai Bahan Baku Bioetanol," *Jurnal Saintek Lahan Kering*, vol. 1, no. 2, pp. 22–23, 2018.

- [10] A. M. A. El-Imam, D. Greetham, C. Du, & P. S. Dyer, "The Development of a Biorefining Strategy for the Production of Biofuel from Sorghum Milling Waste," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 150, no. 107288, 2019.
- [11] N. N. Deshavath, M. Mohan, V. D. Veeranki, V. V. Goud, S. R. Pinnamaneni, & T. Benarjee, "Dilute Acid Pretreatment of Sorghum Biomass to Maximize the Hemicellulose Hydrolysis with Minimized Levels of Fermentative Inhibitors for Bioethanol Production," *3 Biotech*, vol. 7, no. 139, 2017.
- [12] N. Mawarda Rilek, N. Hidayat, & Y. Sugiarto, "Hidrolisis Lignoselulosa Hasil Pretreatment Pelepah Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Menggunakan H₂SO₄ pada Produksi Bioetanol," *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*, vol. 6, no. 2, pp. 76–82, 2017.
- [13] S. M. D. Kolo, D. Wahyuningrum, & R. Hertadi, "The Effects of Microwave-Assisted Pretreatment and Cofermentation on Bioethanol Production from Elephant Grass," *International Journal of Microbiology*, vol. 2020, no. 6562730, 2020.
- [14] F. H. Moede, S. T. Gonggo, & Ratman, "Pengaruh Lama Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioetanol dari Pati Ubi Jalar Kuning (*Ipomea batata* L)," *Jurnal Akademika Kimia*, vol. 6, no. 2, pp. 86-91, 2017.
- [15] H. Julianto, M. Farid, & A. Rasyida, "Ekstraksi Nanoselulosa dengan Metode Hidrolisis Asam sebagai Penguat Komposit Absorpsi Suara," *Jurnal Teknik ITS*, vol. 6, no. 2, pp. 242–245, 2017.
- [16] A. Pramana, A. R. Razak, & Prismawiryanti, "Hidrolisis Selulosa dari Sekam Padi (*Oryza Sativa*) Menjadi Glukosa dengan Katalis Arang Tersulfonasi," *Kovalen*, vol. 2, no. 3, pp. 61–66, 2016.
- [17] M. A. Siahaan & E. Gultom, "Penentuan Kadar Alkohol pada Tuak Aren yang Diperjualbelikan di Nagori Dolok Kecamatan Silau Kahean Kabupaten Simalungun Sumatera Utara," *Jurnal Kimia Saintek dan Pendidik*, vol. 3, no. 2, pp. 41–44, 2019.
- [18] S. F. Rahmana, S. Nurhatika, & A. Muhibuddin, "Uji Potensi Fermentasi Etanol Beberapa *Yeast* yang Diisolasi dari Daerah Malang, Jawa Timur dengan Metode SDN (*Soil Drive Nutrient*)," *Jurnal Sains dan Seni ITS*, vol. 5, no. 2, pp. E47-52, 2016.
- [19] Y. D. Singh, "Cellulosic Bioethanol Production from *Eragrostis airoides* Nees Grass Collected from Northeast India," *SN Applied Sciences*, vol. 1, no. 889, 2019.
- [20] R. Sirohi, J. P. Pandey, A. Singh, R. Sindhu, U. C. Lohani, R. Goel, & A. Kumar, "Industrial Crops & Products Acid Hydrolysis of Damaged Wheat Grains: Modeling the Formation of Reducing Sugars by a Neural Network Approach," *Industrial Crops and Products*, vol. 149, no. 112351, 2020.
- [21] H. V. Kamath, D. D. Suvarna, U. K. Drathi, J. Gayathri, & C. V. Rao, "Microwave Accelerated Dilute Acid Hydrolysis of *Pongamia* Pressed Oil Cake for Release of Fermentable Sugars," *Advances in BioResearch*, vol. 9, no. 6, pp. 109–118, 2018.
- [22] Murniati, S. S. Handayani, & D. K. Risfianty, "Bioetanol dari Limbah Biji Durian (*Durio zibethinus*)," *Jurnal Pijar MIPA*, vol. 13, no. 2, pp. 155-159, 2018.
- [23] B. Joshi, M. R. Bhatt, D. Sharma, J. Joshi, R. Malla, & L. Sreerama, "Lignocellulosic Ethanol Production: Current Practices and Recent Developments," *Biotechnology and Molecular Biology Review*, vol. 6, no. 8, pp. 172–182, 2011.
- [24] A. M. P. Putra, Rustifah, & M. Arsyad, "Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyena* Val.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara *In Vitro*," *Jurnal Ilmiah Manuntung*, vol. 1, no. 1, pp. 68–74, 2015.
- [25] Novia, D. A. Pratama, & W. Hutasoit, "Pembuatan Bioetanol dari Jerami Padi dengan Metode Pretreatment Alkalin dan Asam Encer serta Hidrolisis Enzimatik dilanjutkan Fermentasi,"
- [26] F. Oktavianus, R. M. Sigiuro, & M. D. Bustan, "Pembuatan Bioetanol dari Batang Jarak Menggunakan Metode Hidrolisa dengan Katalis Asam Sulfat," *Jurnal Teknik Kimia*, vol. 19, no. 2, pp. 27–32, 2013.