

Optimasi Produksi Bioetanol pada Fermentasi Hidrolisat Ampas Sagu (*Metroxylon sp.*) Berdasarkan Rancangan Percobaan *Box-Behnken Design (BBD)*

Yohanis Irenius Mandik*, Berthin Songgo, dan Supeno

Program Studi Kimia, Fakultas MIPA Universitas Cenderawasih, Jalan Kamp Wolker, Jayapura 99358

*Corresponding author: yimandik@gmail.com

Abstrak

Produksi bioetanol dari fermentasi hidrolisat ampas sagu telah dioptimasi berdasarkan kombinasi variabel jumlah ragi, waktu fermentasi dan derajat keasaman (pH) sampel melalui rancangan percobaan *Box-Behnken Design (BBD)*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum produksi bioetanol dari ampas sagu dengan rancangan *Box-Behnken Design (BBD)* terhadap variabel jumlah ragi, waktu fermentasi dan pH hidrolisat ampas sagu. Hasil kombinasi dari tiga variabel bebas secara acak oleh program *Box-Behnken Design (BBD)* adalah 17 set percobaan. Larutan asam sulfat 3,5% digunakan untuk memproduksi hidrolisat ampas sagu yang memiliki pH 1,1 dan larutan NaOH 80% digunakan untuk mengatur pH hidrolisat sebesar 4, 5 dan 6 sebelum difermentasi dengan ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) sebanyak 3 g, 4 g dan 5 g selama 5, 6, dan 7 hari. Hasil fermentasi (bioetanol) dimurnikan dengan metode destilasi dan jumlah kadarnya dihitung dengan prosedur perhitungan rendemen. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap set variabel percobaan (jumlah ragi, waktu fermentasi, dan pH) menghasilkan tren peningkatan kadar bioetanol yang kurvatif maksimal. Kadar bioetanol terbesar adalah 5,28% ketika jumlah ragi, waktu fermentasi dan pH hidrolisat berturut-turut sebesar 4 g, 5 hari dan 6.

Kata Kunci: bioetanol; *Box-Behnken Design (BBD)*; fermentasi; hidrolisat ampas sagu.

Optimization of Bioethanol Production in Sago Dregs (*Metroxylon sp.*) Hydrolyzate Fermentation Based on *Box-Behnken Design (BBD)* Experimental Design

Abstract

Production of bioethanol from hydrolyzate fermentation of sago dregs has been optimized based on a variable combination of amount of yeast, fermentation time and acidity (pH) of the sample through the *Box-Behnken Design (BBD)*. This study aims to determine the optimum conditions for bioethanol production from sago dreg with the *Box-Behnken Design (BBD)* on the variables of yeast amount, fermentation time, and pH of sago dregs hydrolyzate. The results of the combination of three independent variables at random by the *Box-Behnken Design (BBD)* program were 17 experimental sets. 3.5% sulfuric acid solution was used to produce sago dreg hydrolyzate with a pH of 1.1 and 80% NaOH solution was used to adjust the hydrolyzate pH of 4, 5 and 6 before being fermented with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as much as 3 g, 4 g and 5 g for 5, 6 and 7 days. The fermented product (bioethanol) was purified by the distillation method and the amount was calculated using the yield calculation procedure. The data from the research showed that each set of experimental variables (amount of yeast, fermentation time, and pH) resulted in a maximally curvative trend of increasing bioethanol content. The largest bioethanol content was 5,28% when the amount of yeast, fermentation time and pH of the hydrolyzate were 4 g, 5 days, and 6, respectively.

Keywords: bioethanol; *Box-Behnken Design (BBD)*; fermentation; sago dregs hydrolysate.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan luas tanaman sagu terbesar di dunia, yaitu sekitar 1.128 juta ha atau 51,3% dari 2.201 juta ha dari total luas tanaman sagu di dunia. Daerah yang berpotensi menghasilkan sagu di Indonesia meliputi Riau, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Maluku, dan Papua. Diperkirakan sekitar 90% dari total luas tanaman sagu di Indonesia ada di Papua (Abner & Miftahorrahman, 2002).

Selama ini, pemanfaatan tanaman sagu hanya terfokus pada ekstraksi patinya dimana pati yang dihasilkan hanya 20–30% sedangkan 75–83% berupa limbah ampas sagu (McClatchey dkk., 2006). Selain itu, pemanfaatan limbah ampas sagu masih sangat terbatas dan dibuang begitu saja sehingga dapat menimbulkan akibat terjadinya pencemaran lingkungan. Sementara itu, ditinjau dari kandungan komponennya, ampas sagu memiliki kandungan bahan kering 86,4%, protein kasar 2,1%, lemak 1,8%, serat kasar 20,3%, abu 4,6%, selulosa 36,3%, hemiselulosa 14,6%, lignin 9,7%, dan silika 3,3% (Sangaji, 2009).

Salah satu komponen yang berpotensi pada limbah ampas sagu adalah selulosa. Selulosa adalah polimer alami yang bersifat dapat didegradasi dan terbarukan. Selulosa dari ampas sagu dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan bioetanol (Haryono dkk., 2010), media pertumbuhan jamur (Sangadji dkk., 2016), dan sebagai bahan baku pembuatan protein sel tunggal (Parama dkk., 2013).

Bioetanol merupakan etanol yang diproduksi dari tumbuh-tumbuhan menggunakan mikroorganisme melalui proses fermentasi. Mikroorganisme yang paling banyak digunakan dalam fermentasi alkohol adalah *Saccharomyces cerevisiae* (ragi roti) karena harganya murah dan lebih mudah didapat (Kartika, dkk., 1992). Bahan baku bioetanol dapat berasal dari biomassa sumber pati (jagung, ubi kayu, sorgun, dan lain-lain), sumber gula (molasses, nira tebu, nira kelapa, dan nira dari berbagai tanaman lain), dan sumber selulosa (onggok, jerami padi, ampas tebu, ampas sagu, tongkol jagung, dan lain-lain sebagainya (Mulyono, dkk., 2011).

Salah satu komponen yang berpotensi pada limbah ampas sagu adalah selulosa. Selulosa adalah polimer alami yang bersifat dapat didegradasi dan terbarukan. Selulosa dari ampas sagu dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan bioetanol (Haryono dkk., 2010), media pertumbuhan jamur (Sangadji dkk., 2016), dan sebagai bahan baku pembuatan protein sel tunggal (Parama dkk., 2013).

Bioetanol dapat digunakan sebagai pengganti BBM tergantung dari tingkat kemurniannya. Bioetanol dengan kadar 95-99% dapat dipakai sebagai bahan substitusi premium (bensin), sedangkan kadar 40% dipakai sebagai bahan substitusi minyak tanah (Rahmawati, 2010).

Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui cara optimasi produksi bioetanol pada fermentasi hidrolisat ampas sagu (*Metroxylon* sp.) berdasarkan rancangan percobaan *Box-Behnken Design (BBD)*, serta menentukan nilai respons yang optimal dari optimasi produksi bioetanol pada fermentasi hidrolisat ampas sagu (*Metroxylon* sp.) berdasarkan rancangan percobaan *Box-Behnken Design (BBD)*.

METODOLOGI

Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioimia Lanjutan, Jurusan Kimia Universitas Cenderawasih Jayapura.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain adalah erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas porselen, corong pisah, pipet, mikropipet, spatula, ayakan 60 mesh, pisau, blender, timbangan analitik, desikator, rotary evaporator, penangas air, vorteks, inkubator, *microwave*, oven, dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan adalah Batang Pandan ampas sagu *Metroxylon* sp. yang diperoleh dari pasar Tradisional, Jayapura. larutan standar glukosa, larutan DNS, asam sulfat (H_2SO_4) 3,5 %, akuades, NaOH 80%, ragi roti (*bake yeast*), larutan buffer, kertas saring dan tisu.

Prosedur Penelitian

Rancang Bangun Fermentor Sederhana

Botol sirup bekas merk ABC yang dikumpulkan dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian dilubangi tutup botol seukuran selang kecil yang akan digunakan, lalu dimasukkan selang kecil ke dalam botol melewati lubang yang telah dibuat pada tutup botol, lalu selang dibuat melingkar membentuk huruf "O" dan bagian selang yang bertemu dilakban dengan lakban hitam. Selanjutnya bagian ujung selang yang berada diluar botol dilipat \pm 3 cm dan dilakban.

Preparasi Sampel

Sampel ampas sagu yang digunakan diperoleh dari salah satu pabrik bahan pangan di kota Jayapura tepatnya di CV. Made Asih Mulia Expo Waena. Ampas sagu yang diperoleh dari pabrik dicuci hingga bersih hingga \pm 10 kali pencucian dengan air dan kemudian dibilas dengan akuades. Selanjutnya ampas sagu yang telah dicuci bersih dijemur di bawah panas matahari selama 7 hari hingga ampas sagu benar-benar kering. Kemudian ampas sagu diblender hingga halus dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh.

Proses Hidrolisis Ampas Sagu (30 ; 60 ; dan 90 Menit)

Ampas sagu yang telah diayak dengan ayakan 60 mesh ditimbang menggunakan neraca analitik masing-masing sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 mL asam sulfat (H_2SO_4) 3,5% kemudian diaduk menggunakan pengaduk kaca hingga tercampur dengan baik. Selanjutnya tutup tabung reaksi menggunakan aluminium foil dan dilapisi dengan lakban hitam hingga benar-benar rapat, kemudian dihidrolisis menggunakan wisebath selama 30 menit, 60 menit, dan 90 menit pada suhu $121^\circ C$. Setelah waktu yang ditentukan, campuran hidrolisat didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring.

Tahap Perancangan

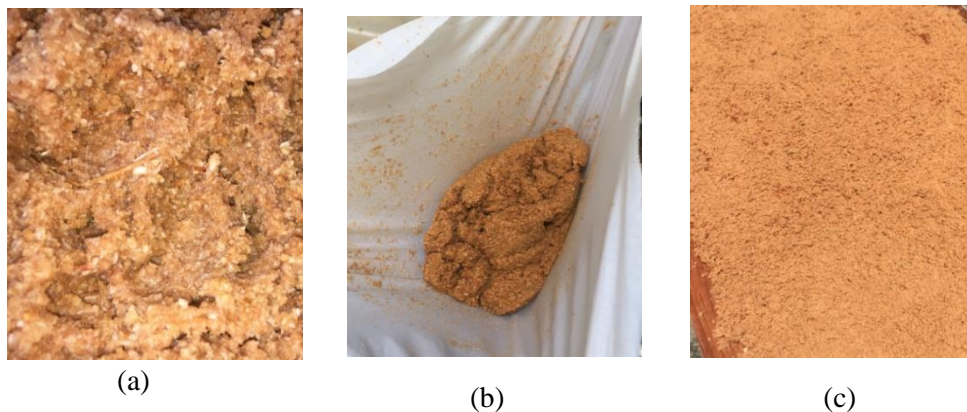
Pada tahap perancangan dilakukan pemilihan faktor/variabel yang akan dioptimasi, dalam penelitian ini faktor-faktor yang akan dioptimasi yaitu jumlah ragi, waktu fermentasi, dan pH awal fermentasi. Selanjutnya dilakukan penetapan batas atas dan batas bawah dari faktor/variabel (+1, 0 dan -1) lalu dilakukan penyusunan desain eksperimen, dan kemudian dilakukan pelaksanaan eksperimen. Variabel bebas yang digunakan yaitu : jumlah ragi (X_1), pH awal fermentasi (X_2) dan waktu fermentasi (X_3).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Preparasi sampel adalah proses persiapan suatu sampel yang wajib dilakukan dan menjadi bagian yang sangat penting dalam suatu analisa, sehingga harus dilakukan dengan baik agar suatu sampel layak untuk diuji di laboratorium. Hal ini disebabkan, dalam analisa kimia terkadang terdapat beberapa syarat yang harus dipenuhi sebelum sampel tersebut diuji, antara lain ukuran sampel harus sekian mesh atau mikrometer. Jadi, sampel yang akan dianalisa harus memiliki ukuran yang sesuai dengan standar yang menjadi metode dalam analisa tersebut, sehingga hasil analisa menjadi akurat dan presisi.

Pada penelitian ini ampas sagu yang diperoleh dari salah satu pabrik bahan pangan di kota Jayapura mula-mula dibersihkan dengan melakukan pencucian sebanyak 10 kali agar bersih dari zat-zat pengotor lain yang bukan ampas sagu. Setelah dicuci dengan air, ampas sagu dicuci kembali menggunakan akuades sebanyak 1 kali untuk memastikan ampas sagu yang telah dicuci benar-benar bersih. Selanjutnya ampas sagu yang telah dicuci bersih dikeringkan dengan melakukan penjemuran di bawah sinar matahari selama 7 hari hingga benar-benar kering dan bebas dari air. Ampas sagu yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh agar mempermudah proses pemecahan selulosa menjadi glukosa pada saat hidrolisis.



Gambar 1 (a) Ampas sagu sebelum dicuci, (b) Penyaringan smpas sagu basah (c) Penjemuran ampas sagu

Hidrolisis Ampas Sagu (30 ; 60 ; dan 90 Menit)

Hidrolisis merupakan proses pemecahan polimer menjadi monomernya. Pada hidrolisis sempurna, selulosa akan menghasilkan glukosa sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentosa (C5) dan heksosa (C6) (Anggraeni, dkk., 2013). Hidrolisis bertujuan merusak struktur kristal dari selulosa serta meningkatkan porositas bahan. Rusaknya struktur kristal selulosa akan mempermudah terurainya selulosa menjadi glukosa. Selain itu, hemiselulosa turut terurai menjadi senyawa gula sederhana seperti glukosa, galaktosa, manosa, heksosa, pentosa, xilosa dan arabinosa (Osvaldo, 2012).

Dalam penelitian ini ampas sagu yang telah halus ditimbang masing-masing sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL H₂SO₄ 3,5% kemudian tabung reaksi ditutup dengan rapat menggunakan aluminium foil dan dilapisi lagi dengan lakban hitam. Setelah itu, tabung reaksi dikaitkan pada styrofoam yang telah dilubangi seukuran diameter tabung reaksi agar pada saat proses hidrolisis di dalam wisebath tabung reaksi tidak terjatuh. Kemudian dilakukan hidrolisis selama 30, 60, dan 90 menit menggunakan wisebath pada suhu 121°C dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan tujuan untuk memperoleh nilai pengukuran yang lebih akurat. Larutan yang diperoleh dari hasil hidrolisis selanjutnya didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring.

Hasil hidrolisis (hidrolisat) yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ada pengurangan volume ekstrak cairan yang dihasilkan dibandingkan dengan volume awal larutan sebelum proses hidrolisis. Volume larutan sebelum hidrolisis yaitu 10 mL dan volume larutan sesudah hidrolisis yaitu ±4 mL. Adanya pengurangan volume larutan pada akhir proses disebabkan oleh sebagian larutan tertinggal dalam butiran serat sagu dan tidak ikut tersaring ke dalam larutan ekstrak. Hal ini ditandai dengan butiran serat sagu yang tetap basah setelah dibiarkan 2 jam setelah proses penyaringan, juga sebagian cairan melekat pada kertas saring.

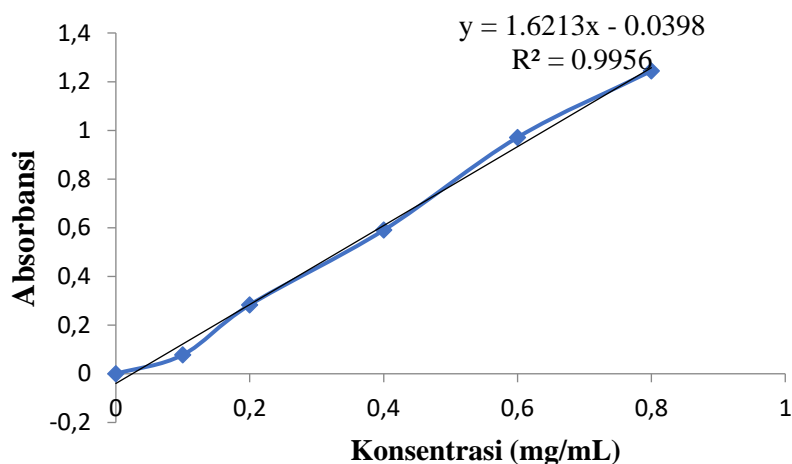
Penentuan Kadar Glukosa

Kurva Standar Glukosa

Hasil pengukuran absorbansi dan kurva kalibrasi larutan standar glukosa dibuat pada panjang gelombang 540 nm dan dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2

Tabel 1 Hasil Absorbansi Larutan Standar Glukosa

Konsentrasi Standar Glukosa (mg/mL)	Absorbansi
Blangko	0,000
0,1	0,078
0,2	0,283
0,4	0,591
0,6	0,971
0,8	1,244



Gambar 2 Kalibrasi Larutan Standar Glukosa

Hasil kurva larutan standar glukosa didapatkan persamaan linier $y = 1.6213x - 0.0398$ dengan nilai $R^2 = 0.9956$.

pH Awal Hidrolisat Ampas Sagu

Sebelum difermentasi pH larutan sampel yang sangat asam yang memiliki pH 1,1 dibuat menjadi pH 4, pH 5, dan pH 6. Keasaman atau pH medium merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan produk dalam proses fermentasi karena setiap mikroorganisme mempunyai kisaran pH optimal (Idral, dkk., 2012). Hal ini sesuai dengan pendapat Roukas dalam (Azizah, dkk., 2012) bahwa kisaran pertumbuhan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* yaitu pH 3,5-6,5. (Graves, dkk., 2006) telah melakukan penelitian bahwa tidak ada produksi etanol di bawah pH 4.0, dikarenakan pada pH tersebut mikroba tidak dapat tumbuh, sedangkan pada pH 6.0 adalah jumlah maksimum untuk kedua-duanya.

Dalam penelitian ini pH awal yang digunakan untuk fermentasi yaitu digunakan pH tetap pada pH 5 sedangkan untuk optimasi fermentasi pada hari ke 5, 6, dan 7 yaitu digunakan variasi pH awal fermentasi sebanyak 3 variasi pada pH 4, pH 5, dan pH 6. Memperhatikan pH awal saat akan melakukan fermentasi sangat penting karena akan sangat berpengaruh pada hasil fermentasi yang dilakukan. Hasil pH awal terbaik yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu pada pH awal 6, dimana pada pH tersebut dihasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan pH awal 4 dan 5.

pH awal larutan hidrolisat ampas sagu dalam penelitian ini sebelum dilakukan penetralan adalah 1,1. Pengaturan pH awal fermentasi dalam penelitian ini menggunakan larutan NaOH (Natrium Hidroksida) dengan konsentrasi 80% dengan cara meneteskan sedikit demi sedikit

larutan NaOH 80% ke dalam larutan hidrolisat ampas sagu yang akan difermentasi hingga diperoleh pH awal yang se

Optimasi Fermentasi Hidrolisat Ampas Sagu

Optimasi fermentasi hidrolisat ampas sagu dilakukan setelah peneliti mengetahui kadar bioetanol tertinggi yang diperoleh pada fermentasi hidrolisat ampas sagu dengan variasi 2 variabel bebas (jumlah ragi dan waktu fermentasi). Adapun hasil peningkatan kadar bioetanol yang telah dilakukan pada perlakuan sebelumnya, diperoleh kadar tertinggi bioetanol sebesar 4,24% pada hari ke-6 dengan penambahan ragi 4 gram pada pH 5. Hasil tersebut menjadi acuan bagi peneliti untuk melakukan optimasi fermentasi hidrolisat ampas sagu dengan tujuan untuk memperoleh kondisi yang optimum dalam memproduksi bioetanol dengan mengoptimalkan 3 variabel bebas yang mencakup jumlah ragi, pH awal fermentasi dan waktu fermentasi. Kemudian ditentukan batas atas dan batas bawah pada setiap variabel bebas sesuai dengan tabel 3.1. Jumlah ragi yang digunakan yaitu 4 gram, maka batas bawah untuk variabel tersebut adalah 3 gram dan batas atas 5 gram. Waktu fermentasi yang digunakan yaitu 6 hari, maka batas bawah untuk variabel tersebut adalah 5 hari dan batas atas 7 hari. pH awal fermentasi yang digunakan yaitu pH 5, maka batas bawah untuk variabel tersebut adalah pH 4 dan batas atas pH 6. Optimasi fermentasi hidrolisat ampas sagu dilakukan berdasarkan tabel rancangan percobaan *Box-Behnken Design (BBD)* sebanyak 17 run. Adapun tabel rancangan percobaan *Box-Behnken Design (BBD)* yang digunakan dapat dilihat pada tabel 3.2.

Fermentasi glukosa dari hidrolisat ampas sagu dilakukan dengan menambahkan *Saccharomyces cerevisiae*. Fermentasi glukosa digunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* karena sumber mikroorganisme yang mampu memfermentasi gula utama yaitu glukosa. Mikroba *Saccharomyces cerevisiae* memfermentasi glukosa menjadi etanol menggunakan jalur EMP (*Embden-Meyerhoff-Parnas*).

Menurut Fardiaz (1992) dalam jurnal Ariyani, dkk., (2013: 170), fermentasi etanol meliputi dua tahap yaitu tahap pertama, pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan paling sedikit dua pasang atom hidrogen melalui jalur EMP (*Embden-Meyerhoff-Parnas*), menghasilkan senyawa karbon lainnya yang lebih teroksidasi daripada glukosa. Tahap kedua, senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi kembali oleh atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama, membentuk senyawa-senyawa hasil fermentasi yaitu etanol. Proses fermentasi ditandai dengan keluarnya gelembung-gelembung udara kecil yang merupakan gas CO₂.

Selanjutnya hasil fermentasi glukosa dilakukan proses destilasi. Destilasi merupakan suatu proses pemurnian dengan menguapkan senyawa cair melalui pemanasan (Chadijah, 2014: 82). Pada penelitian ini senyawa yang menguap terlebih dahulu adalah etanol dibandingkan air karena titik didih etanol adalah 78°C sedangkan air mendidih pada suhu 100°C. Destilasi dilakukan pada larutan hasil optimasi fermentasi hidrolisat ampas sagu dengan mengambil 25 mL larutan yang telah difermentasi sesuai hari yang telah ditentukan dan selanjutnya di masukkan ke dalam labu destilasi dan didestilasi pada suhu 78°C–79°C untuk memisahkan etanol dari larutan yang bukan betanol. Pada saat destilasi berlangsung suhu harus selalu diperhatikan tetap pada suhu etanol yaitu 78°C–79°C, karena apabila melewati angka tersebut maka kemungkinan besar zat-zat lain yang bukan etanol akan ikut menguap sehingga akan mempengaruhi hasil destilasi yang diperoleh. Destilat yang diperoleh disimpan dalam botol vial dan ditutup rapat agar senyawa bioetanol yang terdapat dalam destilat tidak menguap, kemudian destilat tersebut diukur kadar etanolnya.

Hasil yang diperoleh dari destilasi larutan optimasi fermentasi hidrolisat ampas sagu bervariasi yang tergantung pada jumlah ragi, pH awal fermentasi, dan lama waktu fermentasi yang digunakan selama proses fermentasi. Hasil destilasi larutan optimasi fermentasi hidrolisat ampas sagu yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 2. Volume Bioetanol Hasil Destilasi Optimasi Fermentasi

Run	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Volume destilat (mL)
	Jumlah ragi (gram)	pH awal fermentasi	Waktu fermentasi (hari)	
1	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.85
2	(5) 1	(6) 1	(6) 0	1.02
3	(3) -1	(4) -1	(6) 0	0.66
4	(3) -1	(5) 0	(5) -1	0.57
5	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.95
6	(4) 0	(4) -1	(5) -1	0.60
7	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.88
8	(4) 0	(6) 1	(7) 1	0.69
9	(5) 1	(5) 0	(5) -1	0.81
10	(5) 1	(4) -1	(6) 0	1.01
11	(5) 1	(5) 0	(7) 1	0.97
12	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.90
13	(3) -1	(6) 1	(6) 0	0.72
14	(4) 0	(6) 1	(5) -1	1.32
15	(4) 0	(4) -1	(7) 1	0.62
16	(3) -1	(5) 0	(7) 1	0.80
17	(4) 0	(5) 0	(6) 0	1.08

Pengukuran Kadar Bioetanol Hasil Optimasi Fermentasi Hidrolisat Ampas Sagu

Tabel 3 Kadar Bioetanol Hasil Destilasi Optimasi Fermentasi

Run	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Volume destilat (mL)	Kadar etanol (%)
	Jumlah ragi (gram)	pH awal fermentasi	Waktu fermentasi (hari)		
1	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.85	3.40
2	(5) 1	(6) 1	(6) 0	1.02	4.08
3	(3) -1	(4) -1	(6) 0	0.66	2.64
4	(3) -1	(5) 0	(5) -1	0.57	2.28
5	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.95	3.80
6	(4) 0	(4) -1	(5) -1	0.60	2.40
7	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.88	3.52
8	(4) 0	(6) 1	(7) 1	0.69	2.76
9	(5) 1	(5) 0	(5) -1	0.81	3.24
10	(5) 1	(4) -1	(6) 0	1.01	4.04
11	(5) 1	(5) 0	(7) 1	0.97	3.88
12	(4) 0	(5) 0	(6) 0	0.90	3.60
13	(3) -1	(6) 1	(6) 0	0.72	2.88
14	(4) 0	(6) 1	(5) -1	1.32	5.28
15	(4) 0	(4) -1	(7) 1	0.62	2.48
16	(3) -1	(5) 0	(7) 1	0.80	3.20
17	(4) 0	(5) 0	(6) 0	1.08	4.32

Tabel 3 di atas menunjukkan hasil pengukuran kadar etanol hasil optimasi fermentasi yang dilakukan sebanyak 17 run berdasarkan tabel rancangan *Box-Behnken Design (BBD)* dengan variasi jumlah ragi, pH awal fermentasi, dan waktu fermentasi. Kadar etanol tertinggi yang dihasilkan dari optimasi fermentasi hidrolisat ampas sagu diperoleh pada run ke 14 dengan variasi penambahan ragi sebanyak 4 gram, pH awal fermentasi 6, dan lama fermentasi 5 hari diperoleh kadar etanol sebesar 5.28%. Maka dari hasil penelitian tersebut kondisi optimum

untuk menghasilkan kadar etanol tertinggi yaitu dengan variasi jumlah ragi 4 g, pH awal fermentasi 6, dan waktu fermentasi 5 hari. Hasil yang diperoleh tersebut membuktikan keberhasilan penelitian untuk mendapatkan kadar etanol yang lebih optimum dengan mengoptimalkan data yang ada sebelumnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa cara optimasi produksi bioetanol pada fermentasi hidrolisat ampas sagu (*Metroxylon* sp.) berdasarkan rancangan percobaan *Box-Behnken Design (BBD)* variasi 3 variabel bebas (jumlah ragi, pH awal fermentasi, dan waktu fermentasi) telah dilakukan dan berhasil menunjukkan kadar etanol terbanyak serta variasi kondisi optimumnya. Selain itu, Run ke 14 dari rancangan *Box-Behnken Design (BBD)* dengan kondisi (4 g ragi, pH awal fermentasi 6 dan waktu fermentasi 5 hari) menunjukkan kondisi optimum, karena menghasilkan kadar bioetanol terbanyak yaitu sebesar 5,28%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abner L dan Miftahorrahman. Keragaan Industri Sagu Indonesia. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Vol. 8 No. 1 Juni 2002.
- Afriani, M. 2012. Pengaruh Fermentasi dan Konsentrasi Ragi Rot Terhadap Kadar Bioetanol Dari Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Selulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit. Departemen Kimia Universitas Sumatra Utara.
- Agustining, D. 2012. Daya hambat *Saccharomyces cerevisiae* terhadap pertumbuhan jamur fusarium oxysporum. Skripsi. Universitas Jember.
- Ahmad, Riza Zainuddin. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* Untuk Ternak. Jurnal Wartaroza Vol. 1 No. 1. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Anggraeni dan Putri. 2013. "Hidrolisis Selulosa Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) menjadi Glukosa dengan Katalis Arang Aktif Tersulfonasi". *Teknologi Kimia dan Industri* 2, no.3:h. 61-64.
- Ariyani, E., Kusumo, E., dan Supartono. 2013. Produksi bioetanol dari jerami padi (*oryza sativa* l). *Jurnal Institut Teknologi Nasional*, 2(2), 168 - 172.
- Assegaf, F. 2009. Prospek produksi bioetanol bonggol pisang (*musa paradisiacal*) menggunakan metode hidrolisis asam dan enzimatis. Karya Tulis Daya Saing Keunggulan dan Penguasaan IPTEKS (Ilmu Pengetahuan Teknologi dan Seni. Dso Purwokerto, Universitas Jenderal Soedirman Rso Semarang.
- Astuty, E. D. 1991. Fermentasi alkohol kulit buah pisang (*Musa sapientum Lamb*) dengan berbagai jenis inokulum. Tesis, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Holtzapfle., Mark, M., Nathan, W., Charles, D., Bruce, E., Richard, L., Y. Y., Ladisch, M. 2003. Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. *Bioresource Journal*. Purdue University.
- Idral, D. D., Salim, M., dan Mardiah. 2012. Pembuatan bioetanol dari ampas sagu dengan proses hidrolisis asam dan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Kimia Unand*, 1(1), 34-39.
- Jannah, Mujahidah Nida"ul. 2014. "Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Total pada Bonggol serta Daun Brokoli (*Brassica oleracea* L. cv. groups Broccoli)". Skripsi. Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Bandung.
- Khairani, R. 2007. Tanaman Jagung Sebagai bahan Bio-fuel. Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Indonesia.
- Kartika, B., Sutanti, R., dan Nuzulis, A. 1992. Petunjuk evaluasi produk industri hasil pertanian. PAU Pangan dan Gizi UGM : Yogyakarta
- Koolman, Jan, Klaus – Heinrich Röhm. 2001. "Atlas Berwarna & Teks BIOKIMIA". Hipokrates. Jakarta.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang.

- Sudarmadji, S, B. Haryono dan Suhardi. 1989. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Sun,Y., Cheng, J. 2002. "Hidrolisis of Lignocellulose Material for Ethanol Production: a review", *Bioresource Technology*, Vol. 83 hal. 1-11
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. 2007. Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocelulosic Materials. A Review, *Bioresources*, 2(3) :476.
- Trifosa, D. 2007. Konversi Pati Jagung Menjadi Bioetanol Skripsi Program Studi Kimia, FMIPA ITB, Bandung.
- Trisanti. 2009. Prospek Limbah Lignoselulosa untuk Produksi Bioetanol. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI ; Bogor
- Triyati, Ety. 1985. Spektrofotometer Ultra-Violet dan Sinar Tampak Serta Aplikasinya dalam Oseanologi. Jakarta: www.oseanografi.lipi.go.id
- Winarno, FG. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta : Gramedia
- Yohanis I. Mandik, Benjamas Cheirsilp. 2015. "Optimization of flocculation efficiency of lipid-rich marine *Chlorella* sp. biomass and evaluation of its composition in different cultivation modes". *Bioresource Technology*. 182C:89-97.