

OPTIMASI PRODUKSI BIOETANOL DARI SELULOSA TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS) DENGAN VARIASI JUMLAH RAGI DAN LAMA FERMENTASI

Optimization of Bioethanol Production from Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB) Cellulose With Variation of Yeast Amount and Fermentation Time

Amelia Putri¹, Deivy Andhika Permata^{2*}, Risa Meutia Fiana²

¹Mahasiswa Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Andalas

²Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Andalas

*Email: deivyandhikapermata@ae.unand.ac.id

ABSTRAK

Bioetanol adalah bahan bakar alternatif yang ramah lingkungan dan dapat dihasilkan dari biomassa limbah yang mengandung selulosa, seperti tandan kosong kelapa sawit (TKKS). Mengoptimalkan proses produksi bioetanol dari TKKS dapat menjadi solusi untuk pengelolaan limbah ini sekaligus menghasilkan energi terbarukan yang berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kondisi optimum jumlah ragi dan lama fermentasi pada proses produksi bioetanol dari TKKS. Pengoptimalan produksi bioetanol dilakukan dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM). Pengamatan yang dilakukan meliputi rendemen bioetanol, kadar air bioetanol, densitas bioetanol dan kadar bioetanol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah ragi dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap karakteristik bioetanol yang dihasilkan. Jumlah ragi dan lama waktu optimum yang diperoleh, yaitu 8,800 g selama 9,668 hari. Karakteristik bioetanol yang dihasilkan pada kondisi optimum, yaitu rendemen 13%, kadar air 87%, densitas 0,986 g/ml, kadar etanol 9,984%.

Kata kunci—etanol; fermentasi; RSM; TKKS; optimasi

ABSTRACT

Bioethanol is an environmentally friendly alternative fuel. Bioethanol can be produced from waste biomass containing cellulose, such as oil palm empty fruit bunches (OPEFB). Optimizing the bioethanol production process from OPEFB can be a solution for managing this waste while producing sustainable renewable energy. This study examines the optimum conditions for yeast and fermentation time in the bioethanol production process from OPEFB. Bioethanol production optimization uses Response Surface Methodology (RSM). Observations include bioethanol yield, moisture content, density, and bioethanol content. This study showed that the amount of yeast and the length of fermentation significantly affected the characteristics of bioethanol produced. The optimum yeast and time obtained was 8.800 g for 9.668 days. The characteristics of bioethanol produced under optimum conditions, namely yield 13%, moisture content 87%, density 0.986 g/ml, and ethanol content 9.984%.

Keywords—ethanol; fermentation; RSM; OPEFB; optimization

PENDAHULUAN

Pertumbuhan industri dan kenaikan populasi penduduk dapat memicu pemakaian energi menjadi meningkat, termasuk konsumsi bahan bakar fosil. Saat ini terjadi keterbatasan pasokan energi fosil yang tidak terbarukan. Tindakan korektif yang dapat dilakukan yaitu diperlukannya sebuah energi berkelanjutan atau yang dikenal juga dengan energi terbarukan, salah satu contohnya adalah bioetanol (Yuniarti *et al.*, 2018).

Bioetanol memiliki beberapa keunggulan bersifat mudah terdegradasi secara alami (*biodegradable*), bersifat ramah lingkungan, dan tidak akan mengakibatkan kontaminasi terhadap udara yang signifikan jika terjadi kebocoran (Maharani *et al.*, 2021). Bioetanol merupakan etanol yang dihasilkan melalui proses fermentasi glukosa. Glukosa salah satunya dapat diperoleh melalui hidrolisis selulosa dari biomassa bahan berlignoselulosa seperti tandan kosong kelapa sawit (TKKS). Biokonversi bahan lignoselulosa menjadi bahan bakar terbarukan saat ini tengah menjadi perhatian besar karena tidak berdampak pada ketahanan pangan (Ariyajaroenwong *et al.*, 2016)

Pada TKKS mengandung selulosa 46,47%, hemiselulosa 13,55% dan lignin 10,87% (Mahmuda, 2016). Selulosa dari TKKS dipisahkan dari bahan berlignoselulosa lainnya melalui proses delignifikasi (Permata *et al.*, 2021), kemudian selulosa yang terbentuk akan dihidrolisis menjadi glukosa. Glukosa yang kemudian dijadikan sebagai substrat dalam produksi bioetanol (Diaz *et al.*, 2015; Vani *et al.*, 2015). Proses fermentasi yang dilakukan dalam pembuatan bioetanol dapat menggunakan ragi. Ragi sering digunakan pada produk pangan fermentasi seperti tape, roti, dan bir. Pada ragi mengandung *Saccharomyces cerevisiae* yang memiliki kemampuan yang baik dalam mengubah gula menjadi bioetanol (Zhang *et al.*, 2023).

Jumlah ragi yang ditambahkan dan lama fermentasi merupakan variabel kunci yang memengaruhi proses fermentasi glukosa menjadi bioetanol. Pengaruh ini timbul karena jumlah ragi yang terlalu rendah dapat mengurangi laju fermentasi, karena sedikitnya massa mikroorganisme yang memecah glukosa menjadi bioetanol. Di sisi lain, jika jumlah ragi terlalu tinggi, dibutuhkan lebih banyak substrat karena substrat yang tersedia tidak mencukupi, sehingga mengakibatkan penurunan kecepatan fermentasi. Hal serupa juga terjadi pada waktu fermentasi, jika terlalu lama maka mikroorganisme pada ragi dapat merombak etanol yang dihasilkan menjadi asam asetat, sehingga variasi dalam jumlah ragi dan lama fermentasi dapat mempengaruhi kualitas bioetanol yang dihasilkan. Optimasi memungkinkan penentuan kondisi terbaik untuk mencapai kualitas bioetanol yang diinginkan. Disamping itu mengoptimalkan jumlah ragi dan lama fermentasi dapat membantu mencapai produksi bioetanol dengan biaya yang lebih rendah. Penelitian ini bertujuan mengkaji kondisi optimum jumlah ragi dan lama fermentasi pada proses produksi bioetanol dari TKKS.

METODOLOGI PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu TKKS, H₂SO₄, larutan standar glukosa, DNS, NaOH 0,5 M, HCl 50%, Ragi *Saccharomyces cerevisiae* merk "saf-instan", aquadest, kertas saring, H₂O₂, aluminium foil, air panas, larutan DNS (*Dinitrosalicylic acid*), kapas, dan aluminium foil. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat gelas, neraca analitik, oven, piknometer, waterbath, microwave, hotplate, *spektrofotometer UV-Vis*, autoclave, dan termometer.

B. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri atas tiga tahapan. Tahapan pertama dilakukan proses delignifikasi TKKS sehingga menghasilkan selulosa. Selanjutnya pada tahapan kedua dilakukan hidrolisis selulosa sehingga menghasilkan glukosa. Pada tahapan terakhir dilakukan proses fermentasi glukosa menjadi bioetanol dengan bantuan *Saccharomyces cerevisiae*, bioetanol yang terbentuk kemudian dimurnikan.

Delignifikasi (Permata, 2023)

Fraksi serat panjang TKKS dilakukan pengecilan ukuran dengan panjang 2 cm. Sebanyak 20 gram serbuk TKKS dicampurkan dengan 200 ml larutan NaOH 0,5 M. Serbuk TKKS dan larutan NaOH dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu erlenmeyer ditutup rapat dengan kapas lalu aluminium foil untuk mencegah terjadinya penguapan. Setelah itu, sampel diaduk hingga homogen. Setelah sampel tercampur, sampel kemudian dimasukkan ke dalam *microwave* selama 25 menit. Serat hasil delignifikasi kemudian dilakukan proses pemutihan dengan H₂O₂ 2% sebanyak 12 ml setelah itu sampel dinetralkan dengan cara dicuci menggunakan akuadest.

Hidrolisis (Fibarzi *et al.*, 2023)

Sejumlah 25 gram selulosa TKKS ditempatkan ke Erlenmeyer 500 ml, lalu diberikan aquadest sebanyak 150 ml. Selanjutnya, ditambahkan HCl 0.5 N sebanyak 15 ml. Erlenmeyer ditutup menggunakan kapas lalu aluminium foil. Kemudian sampel dipanaskan dengan suhu 100°C selama 100 menit. Setelah itu, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring dan diperoleh hasil hidrolisis.

Optimasi Formulasi Fermentasi Bioetanol

Optimasi formulasi pada fermentasi bioetanol menggunakan *Response Surface Methodology*, melalui tahapan perancangan (pemilihan faktor/komponen dan respon, penetapan batas bawah dan atas dari faktor, penyusunan desain eksperimen dan pelaksanaan eksperimen), analisis model respon (penetapan model matematis dari respon, pembuatan grafik kontur/ 3D, dan pembuatan grafik normalitas data respon, optimasi (penentuan pembuatan grafik normalitas data respon) dan verifikasi (pengujian kondisi optimum dan perbandingan nilai dan prediksi). Perancangan pada penelitian ini menggunakan model *Central Composite Design* dengan batas bawah jumlah ragi sebesar 4 g dan lama fermentasi 2 hari, sedangkan batas atas jumlah ragi sebesar 8 g dan lama fermentasi 10 hari.

Fermentasi guloksa dilakukan dengan cara sebanyak 50 ml larutan yang mengandung glukosa dari proses hidrolisis ditempatkan ke dalam gelas Erlenmeyer berukuran 250 ml. Kemudian ditambahkan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan jumlah yang berbeda sesuai dengan perlakuan. Sampel yang telah disiapkan kemudian ditutup, dan Erlenmeyer dihubungkan dengan botol air melalui penggunaan selang. Proses fermentasi dilakukan sesuai dengan perlakuan dengan suhu 30°C.

Distilasi (Maryana et al., 2020)

Hasil fermentasi dimurnikan dengan menggunakan alat distilasi. Proses distilasi dilakukan dengan suhu 80°C dengan waktu 180 menit (sampai tidak ada bioetanol murni yang keluar).

C. Pengamatan

Serat hasil delignifikasi dilakukan pengamatan kadar selulosa (TAPPI Standard T9M-54), kadar holoselulosa, dan kadar lignin (TAPPI Standard T 13 M-54). Hasil hidrolisis dilakukan analisa kadar glukosa dengan metode *luff schoorl*. Bioetanol yang dihasilkan dari proses distilasi dilakukan pengamatan rendemen (Maryana et al., 2020), kadar air (Sulaiman et al., 2021), densitas, dan kadar etanol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Delignifikasi TKKS

Keberadaan lignin yang berikatan kuat dengan selulosa menyebabkan selulosa sulit untuk dimanfaatkan lebih lanjut. Agar ikatan ini dapat diputus maka dilakukan proses delignifikasi. Proses delignifikasi pada penelitian ini dilakukan secara fisik-kimia menggunakan gelombang mikro dan NaOH. Gelombang mikro memiliki kemampuan dalam memecah struktur polimer dari lignoselulosa. Radiasi gelombang mikro dapat mengubah struktur lignoselulosa dengan memancarkan radiasi elektromagnetik, yang mengakibatkan terbentuknya kantong-kantong termal. Kantong-kantong ini akhirnya meledak akibat peningkatan panas, yang menyebabkan relokasi struktur kristal dalam bahan lignoselulosa (Aguilar-Reynosa et al., 2017). Degradasi lignin terjadi dengan cara penyerangan atom H pada gugus OH fenolik oleh ion hidroksil (OH⁻) dari NaOH. Lignin yang larut dicirikan dengan terbentuknya larutan berwarna hitam pekat, yang dikenal dengan lindi hitam. Kenaikan kadar selulosa terjadi karena sebagian lignin dan hemiselulosa ikut terlarut selama proses delignifikasi, yang mengakibatkan persentase kandungan selulosa meningkat dibandingkan komponen lignoselulosa lainnya. Dari proses delignifikasi yang dilakukan menghasilkan serat dengan kadar selulosa 71,88%, hemiselulosa 0,9% dan lignin 19,92%. Besarnya kadar selulosa yang dihasilkan mengindikasikan potensi TKKS sebagai bahan baku bioetanol.

B. Hidrolisis Selulosa

Selulosa yang diperoleh kemudian dihidrolisis menjadi glukosa dengan bantuan asam kuat pada suhu yang tinggi. Hidrolisis asam adalah proses di mana lignoselulosa dicampur dengan asam pada suhu tertentu, menghasilkan monomer gula yang berasal dari polimer selulosa (Miyona & Warstyo, 2021). Asam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu asam klorida (HCl). Kelebihan penggunaan HCl yaitu memiliki kecepatan laju reaksi yang lebih cepat jika dibandingkan dengan H₂SO₄ dan konversi gula yang dihasilkan tergolong tinggi (Febrina, 2020). Mekanisme reaksi hidrolisis asam pada selulosa dimulai dengan adanya donor H⁺ sehingga proton dari asam akan berinteraksi secara cepat dengan ikatan glikosida pada dua unit glukosa dan menyebabkan terbentuk asam konjugasi. Keberadaan asam konjugasi mengakibatkan konformasi menjadi tidak stabil sehingga terjadi pemutusan ikatan C-

O dan membebaskan asam konjugasi yang berada pada konformasi tidak stabil. Selanjutnya terdapatnya air pada sistem juga menyebabkan OH⁻ dari air berikatan dengan ion karbonium sehingga membebaskan glukosa dan proton. Kemudian proton yang terbentuk akan berinteraksi kembali dengan cepat dengan ikatan glikosida oksigen yang terdapat pada dua unit glukosa yang lain dan proses tersebut akan terus berlanjut hingga molekul selulosa terhidrolisis menjadi molekul glukosa.

Kadar glukosa yang dihasilkan dalam penelitian ini yaitu 13,5%. Aktivitas pertumbuhan starter dipengaruhi oleh jumlah gula dalam substrat (Gayatri & Herawati, 2021). Pertumbuhan starter yang optimal membutuhkan kadar gula antara 10-18%. Jika kadar gula kurang dari 10%, fermentasi tidak akan berlangsung secara optimal dan bahkan bisa mengalami kegagalan. Berdasarkan hasil analisis kadar glukosa yang dihasilkan pada penelitian sudah memenuhi kebutuhan gula untuk proses fermentasi yang baik.

C. Analisis Respon Fermentasi Glukosa Menjadi Bioetanol

Response Surface Methodology (RSM) adalah sekumpulan teknik matematika dan statistik digunakan untuk memodelkan dan menganalisis masalah di mana berbagai variabel mempengaruhi respon yang diinginkan, dengan tujuan mengoptimalkan respon tersebut. Hasil penelitian selanjutnya dianalisis untuk memperoleh model polinomial yang sesuai dengan hasil pengukuran respon. Terdapat empat jenis model polinomial yaitu *2FI*, *linear*, *quadratic*, dan *cubic*. Berdasarkan keempat jenis model ini, dipilih satu model yang paling sesuai dengan hasil pengukuran respon. Model tersebut akan dianalisis untuk memperoleh analisis keragaman.

Kombinasi perlakuan pada penelitian ini terdiri dari 13 run dengan dua faktor yang mempengaruhi diantaranya yaitu jumlah ragi (gram), lama fermentasi (hari). Diharapkan faktor ini berpengaruh terhadap parameter rendemen (%), kadar air (%), desitas (g/ml) dan kadar etanol (%) dari TKKS. Data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan software RSM untuk mendapatkan persamaan matematis yang menjelaskan efek variabel-variabel terhadap respon yang diinginkan. Terdapat tiga pengujian yang dapat dilakukan dalam penentuan model yaitu *uji sum of square*, *uji lack of fit*, dan uji statistika dasar (*R-squared*). Hasil analisis respon disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan dan Hasil Uji Respon

Std	Run	Faktor 1: Jumlah Ragi (gram)	Faktor 2: Lama Fermentasi (hari)	Respon 1: Rendemen (%)	Respon 2: Kadar Air (%)	Respon 3: Densitas (g/ml)	Respon 4: Kadar Etanol (%)
11	1	6	6	11,8	88,2	0,9876	9,5
1	2	6	6	11,6	88,4	0,9871	9,42
12	3	6	0,34	5	95	0,993	6,4
9	4	8,82	6	12	88	0,9868	9,68
6	5	6	11,65	10,2	89,8	0,988	8,7
2	6	4	10	10,8	89,2	0,987	9,02
3	7	6	6	11	89	0,9874	9,18
5	8	8	2	6,8	93,2	0,9907	7,34
4	9	6	6	10,4	89,6	0,9879	8,78
7	10	8	10	13	87	0,9867	9,84
10	11	4	2	6,4	93,6	0,99	7,1
13	12	6	6	10	90	0,9884	8,38
8	13	3,17	6	8	92	0,9886	8,22

Rendemen Bioetanol

Rendemen bioetanol diukur sebagai persentase volume bioetanol yang dihasilkan dari proses distilasi terhadap volume bahan yang digunakan (Maryana *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil pengujian, rentang nilai dari respon yang didapatkan yaitu berkisar antara 5 % hingga 13%. Model yang disarankan yaitu model *quadratic*. Model *quadratic* dipilih karena memiliki nilai PRESS (*prediction error sum of squares*) paling rendah dibandingkan dengan model lainnya sebesar 24,29.

ANOVA bertujuan untuk mengetahui interaksi respon antara variabel. Nilai p (*probability*) diperoleh dari pengolahan nilai respon saat penelitian. Nilai p digunakan untuk menilai kecocokan model, semakin kecil nilai p maka semakin signifikan model tersebut. ANOVA menunjukkan bahwa nilai $p < 0,05$ yaitu 0,0007. Ini mengindikasikan bahwa lama fermentasi dan jumlah ragi berpengaruh pada model ini.

Analisa estimasi model dilakukan dengan *Lack of Fit Test*. Test dilakukan untuk mengetahui sejauh mana regresi linier sederhana cocok dengan data. Berdasarkan nilai *Lack of Fit* nilai p yang diperoleh adalah 0,3144, sehingga $p > 0,05$ dan ketidaktepatan model adalah tidak signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa model eksperimen *full quadratic* signifikan secara statistik. Persamaan matematika untuk respon rendemen bioetanol adalah sebagai berikut:

$$Y = -3,11386 + (1,28234 X_1) + (1,39826 X_2) + (0,056250 X_1 X_2) - (0,091998 X_1^2) - (0,097922 X_2^2)$$

Keterangan :

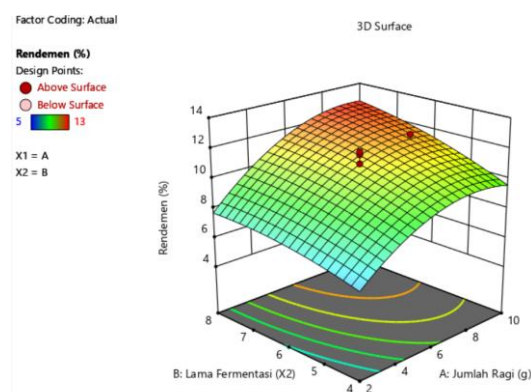
Y = Respon Rendemen

X₁ = Jumlah Ragi

X₂ = Lama Fermentasi

Penentuan pemilihan model selanjutnya dapat ditentukan dari nilai R². Nilai R² untuk model respon rendemen adalah 0,9272 yang menunjukkan 92,7% sampel dipengaruhi oleh lama fermentasi dan jumlah ragi, sementara 7,3% dipengaruhi oleh faktor-faktor lain di luar perlakuan yang diamati dalam penelitian ini. Tingkat atau derajat variasi kelompok data ditunjukkan oleh standar deviasi, semakin kecil standar deviasi, semakin baik data tersebut. Standar deviasi untuk kadar air pada penelitian adalah 0,8860. Nilai standar deviasi yang rendah ini menunjukkan bahwa model memiliki keakuratan yang baik.

Pengujian kadar rendemen memiliki interkasi antara jumlah ragi dan lama fermentasi. Hal ini ditandai dengan adanya perbedaan warna pada grafik mulai dari hijau, kuning, hingga jingga seperti yang ada pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik 3D- Surface Respon Rendemen

Grafik *surface plot* pada Gambar 1, terlihat rendemen dipengaruhi oleh lama fermentasi dan jumlah ragi. Semakin lama fermentasi dan semakin banyak ragi yang ditambahkan, maka rendemen bioetanol yang diperoleh juga semakin meningkat. Ragi mengandung enzim seperti *zymase* yang mengkatalisis fermentasi glukosa menjadi etanol, semakin banyak ragi yang ditambahkan maka semakin banyak enzim yang dapat merubah substrat menjadi produk dan semakin lama fermentasi, maka semakin banyak waktu enzim untuk bereaksi dengan substrat. Namun kondisi ini akan menurun jika jumlah ragi yang ditambahkan berlebih dan waktu fermentasi yang terlalu lama. Hal ini terlihat dari grafik yang ada bahwa rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan jumlah ragi 8 gram dengan waktu fermentasi 10 hari, namun rendemen bioetanol mengalami penurunan pada perlakuan fermentasi 12 hari dengan jumlah ragi sebanyak 8 gram. Penurunan rendemen ini disebabkan oleh lamanya waktu fermentasi sehingga terjadi degradasi etanol, etanol yang sudah terbentuk mulai terdegradasi menjadi asam asetat atau produk lainnya melalui proses oksidasi atau aktivitas mikroba lainnya. Terlalu banyak ragi juga dapat menyebabkan penumpukan produk sampingan atau kompetisi antar sel ragi untuk substrat (Febrina, 2020).

Kadar Air

Kadar air adalah banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen (Ndumuye *et al.*, 2022). Rentang nilai respon kadar air bioetanol hasil pengujian berkisar 87%-95%. Model yang disarankan oleh program untuk respons hasil penelitian ini adalah model *quadratic*, dengan nilai PRESS (*prediction error sum of squares*) sebesar 24,29.

Hasil ANOVA menunjukkan nilai $p < 0,05$ yaitu 0,0007. Ini mengindikasikan bahwa lama fermentasi dan jumlah ragi berpengaruh pada model ini. Berdasarkan nilai *Lack of Fit* nilai p yang diperoleh adalah 0,3144, sehingga $p > 0,05$. Ketidaktepatan model adalah tidak signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa model eksperimen *full quadratic* signifikan secara statistik. Persamaan matematika untuk respon kadar air bioetanol adalah sebagai berikut:

$$Y = 100,31139 - (1,28234 X_1) - (1,39826 X_2) - (0,056250 X_1 X_2) + (0,091998 X_1^2) + (0,097922 X_2^2)$$

Keterangan :

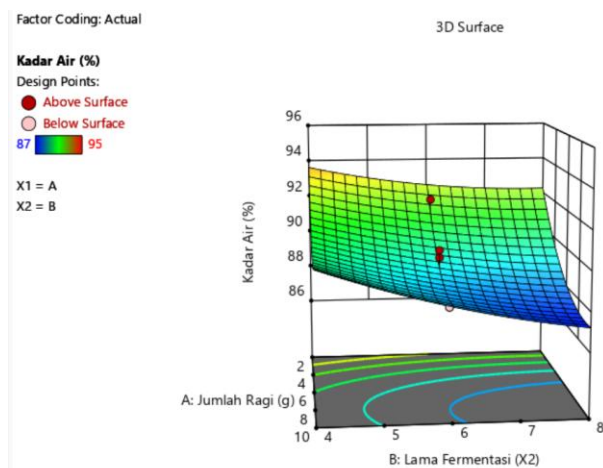
Y = Respon Kadar Air

X₁ = Jumlah Ragi

X₂ = Lama Fermentasi

Nilai R² untuk model respon kadar air adalah 0.9272, yang menunjukkan bahwa 92,7% sampel dipengaruhi oleh lama fermentasi dan jumlah ragi, sementara 7,3% dipengaruhi oleh faktor-faktor lain di luar perlakuan yang diamati dalam penelitian ini. Standar deviasi untuk kadar air pada penelitian adalah 0,8660. Nilai standar deviasi yang rendah ini menunjukkan bahwa model memiliki keakuratan yang baik.

Pengujian kadar air memiliki interaksi antara jumlah ragi dan lama fermentasi. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan pada degradasi warna yang berbeda dari hijau dan biru yang terdapat pada grafik *3D-Surface*. *3D-Surface* dapat dilihat pada Gambar 2. Respon kadar air yang rendah ditunjukkan oleh warna biru, sedangkan kadar air yang semakin tinggi ditunjukkan oleh warna hijau.



Gambar 2. Grafik *3D-Surface* Respon Kadar Air

Kadar air terendah didapatkan dari perlakuan fermentasi 10 hari dengan jumlah ragi yang ditambahkan sebanyak 8 gram. Namun, kadar air tertinggi terdapat pada perlakuan fermentasi 0,34 hari dengan jumlah ragi 6 gram. Hal ini menandakan bahwa semakin lama fermentasi dilakukan maka mikroorganisme memiliki lebih banyak waktu untuk mengubah gula menjadi etanol. Pada tahap awal fermentasi, kadar air dalam campuran cenderung lebih tinggi karena proses fermentasi belum optimal. Namun, dengan semakin lama fermentasi, konsentrasi etanol dalam larutan meningkat, sehingga secara relatif kadar air akan menurun. Proses ini terjadi karena etanol yang terbentuk akan menggantikan air sebagai komponen utama dalam cairan fermentasi. Jumlah ragi yang digunakan dalam fermentasi juga memainkan peran penting dalam menentukan hasil akhir. Semakin banyak ragi yang ditambahkan, semakin cepat proses fermentasi berjalan. Ragi dalam jumlah yang cukup akan memastikan bahwa proses fermentasi berjalan dengan efisien, gula dalam substrat dapat diubah sepenuhnya menjadi etanol. Peningkatan jumlah ragi berkontribusi pada peningkatan produksi etanol, yang secara langsung mengurangi kadar air dalam campuran.

Densitas Bioetanol

Densitas merupakan pengukuran massa setiap satuan volume zat cair (Maryana *et al.*, 2020). Hasil pengujian densitas bioetanol menunjukkan rentang nilai antara 0,9867-0,9930 g/ml. Model yang disarankan ini adalah model *quadratic* dengan nilai PRESS sebesar 0.

ANOVA menunjukkan bahwa nilai $p < 0,05$ yaitu 0,0005. Ini mengindikasikan bahwa lama fermentasi dan jumlah ragi berpengaruh pada model ini. Berdasarkan nilai *Lack of Fit* nilai p yang diperoleh adalah 0,2379, sehingga $p > 0,05$ dengan ketidaktepatan model adalah tidak signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa model eksperimen *full quadratic* signifikan secara statistik. Persamaan polynomial untuk respon kadar densitas bioetanol adalah sebagai berikut:

$$Y = 0,991856 + (0,000397X_1) - (0,001216X_2) - (0,000031X_1 X_2) - (0,000029X_1^2) + (0,000080X_2^2)$$

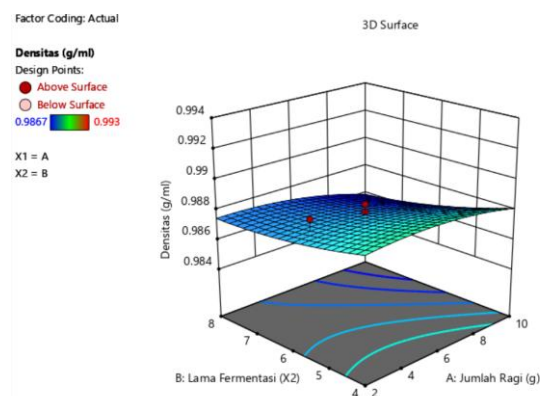
Keterangan :

Y= Respon Densitas

X₁= Jumlah Ragi

X₂= Lama Fermentasi

Nilai R² untuk model respon densitas 0,9360 yang menunjukkan bahwa 93,7% sampel dipengaruhi oleh lama fermentasi dan jumlah ragi, sedangkan 6,3% dipengaruhi oleh faktor yang tidak termasuk dalam perlakuan yang diamati dalam penelitian ini. Standar deviasi untuk densitas pada penelitian ini adalah 0,0006. Nilai standar deviasi yang rendah ini menunjukkan bahwa model memiliki keakuratan yang baik. Pengujian densitas memiliki interaksi antara jumlah ragi dan lama fermentasi. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan pada degradasi warna yang berbeda dari hijau dan biru (Gambar 3).



Gambar 3. Grafik 3D- Surface Respon Densitas

Lama fermentasi dan banyaknya jumlah ragi yang digunakan berpengaruh nyata terhadap densitas bioetanol yang dihasilkan. Densitas menurun seiring bertambahnya waktu dan banyaknya ragi yang ditambahkan. Pada kondisi tersebut aktivitas mikroorganisme meningkat sehingga lebih banyak glukosa dikonversi menjadi alkohol (Widyastuti *et al.*, 2022). Semakin kecil densitas bioetanol yang diperoleh (Nasrun *et al.*, 2015). Hal ini terjadi karena penambahan ragi meningkatkan produksi etanol, dan dengan meningkatnya jumlah etanol, berat atau densitas campuran etanol-air menjadi semakin rendah.

Densitas yang paling optimal didapatkan dari perlakuan 10 hari fermentasi dan jumlah ragi yang digunakan yaitu 8 gram. Hasil ini menunjukkan bahwa temuan pada penelitian ini sesuai dengan penelitian (Widyastuti *et al.*, 2022), yang menyatakan bahwa semakin lama fermentasi dan semakin banyak jumlah ragi yang ditambahkan, maka densitas yang diperoleh akan semakin kecil.

Kadar Etanol

Hasil analisa kadar etanol menunjukkan rentang nilai respon yang diperoleh sebesar 6,96-9,84%. Model yang disarankan adalah model *quadratic* dengan nilai PRESS (*prediction error sum of squares*) 3,57. Hasil ANOVA menunjukkan bahwa nilai $p < 0,05$ yaitu 0,0014. Ini mengindikasikan bahwa lama fermentasi dan jumlah ragi berpengaruh pada model ini. Berdasarkan nilai *Lack of Fit* nilai p yang diperoleh adalah 0,7192, sehingga $p > 0,05$. Ketidaktepatan model adalah tidak signifikan. Hal ini

mengindikasikan bahwa model eksperimen *full quadratic* signifikan secara statistik. Persamaan matematik untuk respon kadar etanol adalah sebagai berikut:

$$Y = 5,15747 + (0,183357 X_1) + (0,679900 X_2) + (0,018125X_1 X_2) - (0,008063 X_1^2) - (0,045755 X_2^2)$$

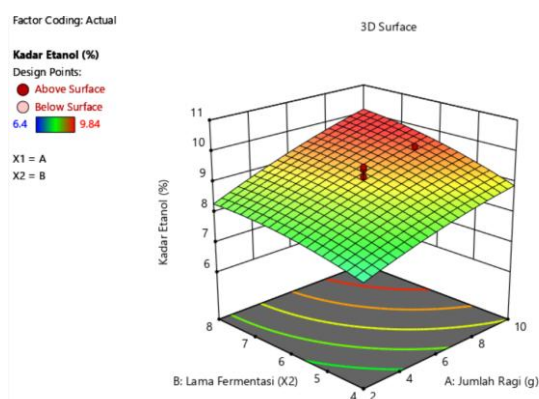
Keterangan :

Y= Respon Kadar Etanol

X₁= Jumlah Ragi

X₂= Lama Fermentasi

Nilai R² untuk model respon kadar etanol 0,9127 yang menunjukkan 91,3% sampel dipengaruhi oleh lama fermentasi dan jumlah ragi, sedangkan 8,7% dipengaruhi oleh faktor yang tidak termasuk dalam perlakuan yang diamati dalam penelitian ini. Standar deviasi untuk kadar etanol pada penelitian adalah 0,4119. Nilai standar deviasi yang rendah ini menunjukkan bahwa model memiliki keakuratan yang baik. Pengujian kadar etanol memiliki interaksi antara jumlah ragi dan lama fermentasi. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan pada degradasi warna yang berbeda dari hijau, kuning dan jingga yang terdapat pada grafik *3D- Surface* (Gambar 4).



Gambar 4. Grafik *3D- Surface* Respon Kadar Etanol

Lama fermentasi dan banyaknya jumlah ragi yang diberikan berpengaruh nyata pada kadar etanol. Semakin lama proses fermentasi dan semakin banyak jumlah ragi yang diberikan, maka kadar etanol yang dihasilkan juga akan meningkat. Kadar etanol yang paling rendah dalam penelitian ini diperoleh pada perlakuan dengan lama fermentasi 0,34 hari dengan jumlah ragi sebanyak 6 g. Hal ini disebabkan karena selama 20 jam pertama, ragi masih melakukan adaptasi atau berada pada *fase lag* sehingga kadar etanol yang dihasilkan masih rendah. Kadar etanol mulai meningkat antara 2-6 hari, saat sel-sel ragi memasuki fase *eksponensial* dan mulai memproduksi alkohol serta senyawa lainnya. Pada rentang waktu 6 hingga 10 hari, kadar etanol mencapai puncaknya karena ragi berada dalam fase stasioner. Pada fase ini, terjadi perubahan kimiawi, kadar gula dalam media menurun akibat konversi glukosa menjadi alkohol dan asam-asam organik, sehingga terjadi penurunan pH dan mengurangi jumlah sel ragi. Kadar etanol menurun pada rentang waktu 12, karena nutrisi untuk *Saccharomyces cerevisiae* telah habis dan diubah menjadi alkohol serta asam-asam organik sebagai metabolit sekunder. Akumulasi alkohol yang meningkat membuat media menjadi autotoksik, yang akhirnya menyebabkan kematian sel. Penurunan produksi etanol terjadi karena oleh penurunan kurva pertumbuhan mikroba di akhir fermentasi serta berkurangnya nutrisi yang ada seiring bertambahnya waktu fermentasi. Kadar bioetanol meningkat seiring waktu fermentasi hingga mencapai batas tertentu, setelah itu akan mengalami penurunan (Sulaiman *et al.*, 2021).

Optimasi Respon Permukaan dan Verifikasi

Optimasi bertujuan menemukan gabungan model terbaik yang menghasilkan suatu respon dan variabel yang diinginkan. Proses ini melibatkan analisis variabel dan respon yang ingin dioptimasi dari penelitian. Optimasi respon permukaan ditentukan berdasarkan sasaran penelitian dan bobot kepentingan dari masing-masing variabel serta respon untuk mencapai solusi yang optimal. Sasaran masing-masing respon terbagi menjadi tiga, yaitu *in range* (respon berada dalam batas atas dan bawah),

maximize (respon dikehendaki semaksimal mungkin), *minimize* (respon dikehendaki seminimal mungkin) dan *target* (respon dikehendaki berdasarkan nilai yang akan dituju). Adapun yang termasuk sasaran *in range* yaitu jumlah ragi dan lama fermentasi. Kadar air dan densitas ditetapkan pada sasaran *minimize*, sedangkan rendemen dan kadar etanol ditetapkan pada sasaran *maximize*. Kriteria respon paling berpengaruh ditetapkan dalam rentang dengan skala kepentingan 5 (+++++) yaitu pada respon kadar air, densitas dan kadar etanol, sedangkan respon rendemen dengan skala kepentingan 3 (+++). Terdapat 16 solusi yang ditawarkan oleh aplikasi. Hasil kombinasi kondisi proses yang terpilih yaitu jumlah ragi sebanyak 8,800 g dan lama fermentasi 9,668 hari dengan rendemen 13,000%, kadar air 87,000%, densitas 0,986 g/mL, kadar etanol 9,985%, dan *desirability* 1.

Setelah dilakukannya verifikasi laboratorium, hasil yang didapatkan tidak berbeda secara signifikan dari solusi optimum, yaitu dengan rendemen 13,000%, kadar air 87,000%, densitas 0,986 g/ml, kadar etanol 9,984%. Nilai keseluruhan respon (jumlah ragi dan lama fermentasi) telah memenuhi 95% *confidence interval* (CI) dan 95% *prediction interval* (PI) yang telah diprediksi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa model memberikan prediksi yang baik untuk keseluruhan respon yang diteliti pada desain RSM. Jika dibandingkan dengan beberapa penelitian pada Tabel 2, karakteristik bioethanol yang dihasilkan tidak jauh berbeda.

Tabel 2. Perbandingan dengan Penelitian Sejenis

Bahan Baku Bioeanol	Perlakuan	Hasil Penelitian	Sumber Referensi
Ampas tebu, ragi, ragi tape, urea	Jumlah ragi terdiri 3 taraf, yaitu 0,4% dari substrat, 0,6% dari substrat dan 0,8% dari substrat. Jenis ragi terdiri dari 2 taraf yaitu ragi tape dan ragi. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali	Konsentrasi ragi dan jenis ragi berpengaruh nyata terhadap kadar bioetanol yang dihasilkan. Peningkatan konsentrasi ragi akan meningkatkan rendemen dan kadar bioetanol yang dihasilkan. Kadar bioetanol tertinggi diperoleh dari penggunaan ragi dengan konsentrasi 0,8%, yaitu 14,61 % (b/b).	(Maryana, Silsia, & Budiyanto, 2020)
Pisang Ragi Hutan,	Fermentasi variasi masa ragi (3 % , 4%, dan 5% dari total bubur pisang)	Bioetanol berbahan buah pisang hutan mempunyai potensi cukup baik untuk dikembangkan karena kualitas bioetanol yang dihasilkan memiliki nilai densitas dan specific gravity sesuai dengan standar mutu bioetanol yaitu sebesar 0,78 pada ragi 3% dari bahan baku	(Sulaiman, Syahdan, & Ulva, 2021)
Bonggol jagung, ragi, urea	Fermentasi ragi dengan variasi waktu (1 hari, 2 hari dan 3 hari)	Bioetanol yang didapatkan dari proses fermentasi selama 1 hari dan penambahan ragi 1 gram mendapatkan kadar tertinggi yaitu 11%.	(Chusna <i>et al.</i> , 2024)

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Lama Fermentasi dan jumlah ragi *Sacchomyces cerevisiea* berpengaruh nyata terhadap uji rendemen, kadar air, densitas dan kadar etanol. Semakin banyak ragi yang ditambahkan dan semakin lama fermentasi bioetanol dilakukan maka rendemen dan kadar etanol yang dihasilkan akan semakin banyak. Hal ini berbanding terbalik dengan kadar air dan densitas bioetanol, semakin banyak ragi yang ditambahkan dan semakin lama fermentasi dilakukan maka kadar air dan densitas bioetanol akan semakin kecil.

2. Kondisi optimum pada proses produksi bioetanol dari tandan kosong kelapa sawit yaitu jumlah ragi sebanyak 8,800 g dan lama fermentasi 9,668 hari dengan karakteristik bioethanol yang dihasilkan rendemen 13,000%, kadar air 87,000%, densitas 0,986 g/ml, kadar etanol 9,984%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Andalas yang telah mendanai penelitian ini sesuai dengan kontrak penelitian skripsi sarjana (PSS) batch I nomor 124/UN16.19/PT.01.03/PSS/2024 tahun anggaran 2024.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar-Reynosa, A., Romani, A., Ma. Rodríguez-Jasso, R., Aguilar, C. N., Garrote, G., & Ruiz, H. A. (2017). Microwave heating processing as alternative of pretreatment in second-generation biorefinery: An overview. *Energy Conversion and Management*, 136, 50–65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.01.004>
- Ariyajaroenwong, P., Laopaiboon, P., Salakkam, A., Srinophakun, P., & Laopaiboon, L. (2016). Kinetic models for batch and continuous ethanol fermentation from sweet sorghum juice by yeast immobilized on sweet sorghum stalks. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 66, 210–216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtice.2016.06.023>
- Chusna, F. M. A., Cahaya, S., & Aprianita, S. (2024). Optimization of Bioethanol Production from Corn Cob Waste Based on Differences in Fermentation Time and Yeast Weight. *Jurnal Serambi Engimeering*, IX(1), 8140–8145.
- Diaz, A. B., Moretti, M. M. de S., Bezerra-Bussoli, C., Carreira Nunes, C. da C., Blandino, A., da Silva, R., & Gomes, E. (2015). Evaluation of microwave-assisted pretreatment of lignocellulosic biomass immersed in alkaline glycerol for fermentable sugars production. *Bioresource Technology*, 185, 316–323. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.112>
- Febrina, R. V. (2020). *The Effect of Variation of Yeast Mass of Saccharomyces Cerevisiae and Fermentation Time on the Content of Bioethanol Based on Arabica Coffee Skin Waste (Coffea arabica L)*. Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
- Fibarzi, W. U., Nurlaila, R., Sirait, F., Sulhatun, Ibrahim, I., & Hakim, L. (2023). Production of Liquid Glucose Using the Hydrolysis Method of Chlorid Acid from Cassava (Manihot Esculenta) as a Basis. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 12(1), 49–57. <https://doi.org/10.29103/jtku.v12i1.11624>
- Gayatri, N. P., & Herawati, D. A. (2021). The Effect of Saccharomyces cerevisiae Mass Variation and Time of Fermentation on Bioethanol production from Solid Waste of Palm Starch Using Simultaneous of Saccarification and Fermentation Methods. *Jurnal Kimia Dan Rekayasa*, 1(2), 61–69. <http://kireka.setiabudi.ac.id>
- Maharani, M. M., Bakrie, M., & Nurlela. (2021). The Effect of Yeast Type, Yeast Mass and Fermentation Time on the Production of Bioethanol from Durian Seed Waste. *Jurnal Redoks*, 6(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.31851/redoks.v6i1.5200>
- Mahmuda, N. (2016). *Hydrolysis Of Oil Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB) by Aspergillus sp. (VTM1) and Pestalotiopsis sp. (VM9) as Growing Media for PST Saccharomyces cerevisiae*. Universitas Jember.
- Maryana, T., Silsia, D., & Budiyanto. (2020). Effect of Yeast Concentration and Type of Starter on Bioethanol Production from Sugarcane Bagasse. *Jurnal Agroindustri*, 10(1), 47–56. <https://doi.org/10.31186/j.agroind.10.1.47-56>
- Nasrun, Jalaluddin, & Mahfuddhah. (2015). Effect of Yeast Amount and Fermentation Time on Bioethanol Content Produced from Papaya Peel Fermentation. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(2), 1–10.
- Ndumuye, E., Langi, T. M., & Taroreh, M. I. R. (2022). Chemical Characteristics of Muate Flour (Pteridophyta Filicinae) as Traditional Food for the Community of Kimaam Island. *Applied Agroecotechnology Journal*, 3(2), 261–268.
- Permata, D. A. (2023). *Physical-Chemical Preparation Process of Palm Oil Empty Fruit Bunches Cellulose Using Microwaves* (Patent S00202312387).

- Permata, D. A., Kasim, A., Asben, A., & Yusniwati. (2021). Characteristics of Empty Oil Palm Fruit Bunches Based on Fiber Fraction. In H. R. Erlangga, Yuniarti, S. Amelia, & M. Elisa (Eds.), *Seminar Nasional Kemajuan Inovasi dan Hilirisasi Inovasi Mendukung Pertanian Maju Mandiri Modern* (pp. 514–521). Andalas University Press.
- Sulaiman, D., Syahdan, S., & Ulva, S. M. (2021). Analysis of Bioethanol Characteristic Test from Forest Bananas on Yeast Mass Variation. *Jurnal Kumparan Fisika*, 4(3), 169–176. <https://doi.org/10.33369/jkf.4.3.169-176>
- Vani, S., Sukumaran, R. K., & Savithri, S. (2015). Prediction of sugar yields during hydrolysis of lignocellulosic biomass using artificial neural network modeling. *Bioresource Technology*, 188, 128–135. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.083>
- Widyastuti, D. A., Minarti, I. B., & Ula, N. (2022). Effect of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Mass Variation and Fermentation Duration on Density and Yield of Reed Bioethanol (*Imperata cylindrica*). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, VIII(1), 54–59.
- Yuniarti, D. P., Hatina, S., & Efrinalia, W. (2018). The Effect of Yeast Amount and Fermentation Time on the Manufacture of Bioethanol With Bagasse Raw Materials. *Jurnal Redoks*, 3(2), 1–12.
- Zhang, H., Zhang, P., Wu, T., & Ruan, H. (2023). Bioethanol Production Based on *Saccharomyces cerevisiae*: Opportunities and Challenges. *Fermentation*, 9(8), 1–4. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/fermentation9080709>