

# Efektifitas Fraksinasi Kering pada pengolahan Empulur Sagu dan Pemanfaatan Produk untuk Produksi Etanol

## Effectiveness of Dry Fractionation in Sago Pith processing and Product Utilization for Ethanol Production

Abdurachman<sup>1,2\*</sup>, Erliza Noor<sup>1</sup>, Titi Chandra Sunarti<sup>1</sup>, Tajuddin Bantacut<sup>1</sup>, Agus Eko Tjahjono<sup>2</sup>, Musa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

<sup>2</sup> Pusat Riset Agroindustri – Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional

Email\*): abdu038@brin.go.id

Received:

19 December 2023

Revised:

28 February 2024

Accepted:

13 March 2024

Published:

27 March 2024

DOI:

10.29303/jrpb.v12i1.599

ISSN 2301-8119, e-ISSN

2443-1354

Available at

<http://jrpb.unram.ac.id/>

**Abstract:** Starch is more easily converted to sugars and fermented into ethanol. To increase ethanol productivity, a high-gravity fermentation method was developed. Sago trees are starch-producing that do not compete with food crops, but conventional processing has a negative impact on the environment. An alternative technology to minimize environmental impact is dry fractionation, product characteristics are suitable for ethanol production. Analysis of the effectiveness the processing of sago pith and the use of products for ethanol has never been published, so the analysis is carried out based on vertical differences in stem parts and determination of the optimum conditions of the ethanol production using sago starch-rich flour. Yield, starch recovery, starch enrichment and shift starch are observational variables for the analysis of dry fractionation effectiveness. Starch-rich flour from the results of dry fractionation of each group of stem parts is mixed with a uniform composition and used as a fermentation medium. The one factor at a time (OFAT) experiment design was used to determine the effect of variables on optimal response, and verification is carried out. The distribution of starch granule size, starch content and parenchyma fiber characteristics can affect the effectiveness. Ethanol productivity showed optimum results at liquifaction 80oC for 60 minutes, using simultaneous saccharification and fermentation (SSF), high gravity fermentation and self-flocating yeast. The application of dry fractionation technology to obtain ethanol raw materials from sago trees has the potential to increase the added value of sago cultivation and the economic value of ethanol to be more competitive.

**Keywords:** dry fractionation; ethanol; sago pith; simultaneous saccharification fermentation; starch rich flour

**Abstrak:** Pati lebih mudah dikonversi menjadi gula sederhana dan difermentasi menjadi etanol. Untuk meningkatkan produktifitas etanol dikembangkan metode fermentasi gravitasi tinggi. Pohon sagu merupakan tanaman penghasil pati yang tidak berkompetisi dengan tanaman pangan, namun pengolahan secara konvensional berdampak negatif pada lingkungan. Alternatif teknologi pengolahan sagu untuk meminimalkan dampak lingkungan adalah fraksinasi kering, dan karakteristik produknya cocok digunakan sebagai bahan baku etanol. Analisa efektifitas fraksinasi kering untuk pengolahan empulur sagu dan pemanfaatan produk untuk etanol belum pernah dipublikasikan, maka analisa efektifitas fraksinasi kering dilakukan berdasarkan perbedaan bagian batang secara vertikal dan penentuan kondisi optimum proses produksi etanol menggunakan tepung kaya pati sagu. Rendeman, efisiensi pemisahan pati, peningkatan kadar pati dan perpindahan pati merupakan variabel pengamatan yang digunakan pada analisa efektifitas fraksinasi kering. Tepung kaya pati dari hasil fraksinasi kering dari masing-masing kelompok bagian batang dicampur dengan komposisi yang seragam dan digunakan sebagai media fermentasi. Rancangan percobaan one factor at a time (OFAT) digunakan untuk mengetahui pengaruh variabel pengujian pada response yang optimal, dan dilakukan verifikasi pengujian. Distribusi ukuran granula pati, kandungan pati dan karakteristik serat parenkima dapat

mempengaruhi efektifitas fraksinasi kering empulur sagu. Produktifitas etanol menunjukkan hasil yang optimum pada suhu liquifikasi 80oC selama 60 menit, menggunakan metoda sakarifikasi dan fermentasi simultan (SSF), pada kondisi gravitasi tinggi dengan menggunakan yeast berflokulasi mandiri. Penerapan teknologi fraksinasi kering untuk mendapatkan bahan baku etanol dari pohon sagu berpotensi meningkatkan nilai tambah budi daya tanaman sagu dan nilai ekonomi etanol agar lebih kompetitif.

**Kata kunci:** empulur sagu; etanol; fraksinasi kering; sakarifikasi-fermentasi simultan; tepung kaya pati

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Etanol merupakan bahan bakar transportasi non fosil, digunakan sebagai aditif dan pengganti bensin secara partial (Zabed et al., 2017). Di Indonesia, konversi bensin menjadi etanol yang sebelumnya hanya 5% (E5), akan ditingkatkan menjadi 10% (E10) ditahun 2030 (Indonesia.go.id, 2023). Berdasarkan ketersediaan bahanbaku, pati lebih mudah dihidrolisis menjadi gula dibandingkan selulosa dan hemiselulosa, maka sebagian besar pabrik etanol yang beroperasi saat ini memanfaatkan produk hasil pertanian yang mengandung pati (Myburgh et al., 2020), namun ketersediaan lahan menyebabkan persaingan dengan tanaman pangan (Oke et al., 2016). Menurut Aruwajoye et al (2020) priotitas penyediaan bahan baku berpati bersumber dari tanaman penghasil pati yang belum dimanfaatkan secara optimal, dapat dibudidayakan dilahan kritis, dan menumbuhkembangkan aktifitas pertanian.

Tanaman sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) merupakan tanaman penghasil karbohidrat yang efisien, karena mampu mempertahankan produktifitas dan keberlangsungan hidupnya secara alami (Bantacut et al., 2020). Pohon sagu dapat tumbuh di lahan rawa gambut (*peat swampy*), rawa bakau (*mangrove*) dan rawa air tawar (*fresh water swamp*) dengan tingkat kesuburan tanah yang rendah (Bintoro et al., 2018). Dari buku statistik perkebunan sagu Direktorat Jenderal Perkebunan - Kementerian Pertanian (2019) menyimpulkan bahwa luas lahan perkebunan sagu di Indonesia pada tahun 2018 mencapai 311.954 hektar, terdiri dari perkebunan yang dikelola oleh masyarakat sekitar 95,96% dan perkebunan yang dikelola swasta 4,04%.

Menurut Dalimunthe et al., (2019) di Indonesia ada dua metoda ekstraksi pati sagu, yaitu: 1) fraksinasi basah, pemisahan dan pemurnian pati dilakukan dengan menggunakan air, produknya disebut pati sagu (*sago starch*), 2) fraksinasi kering, peningkatkan kadar pati sagu dilakukan tanpa menggunakan air, tahapan prosesnya adalah : setelah empulur sagu dikeringkan, selanjutnya direduksi ukurannya hingga lolos ayakan 35 mesh. Produknya disebut tepung empulur sagu (*sago pith flour*) dan dimanfaatkan untuk kebutuhan industri.

Fraksinasi kering pada tanaman berpati bertujuan untuk: memisahkan partikel pati dari komponen lainnya seperti serat dan protein, dengan meminimalkan penggunaan air (Funke et al., 2022). Keunggulan fraksinasi kering dibandingkan dengan fraksinasi basah menurut Rempel et al. (2019) adalah 1) mempertahankan kandungan nutrisi dan sifat fungsional pati, 2) ramah lingkungan, 3) kapasitas produksinya dapat ditingkatkan dengan memanfaatkan teknologi lainnya, dan 4) fasilitas pengolahan dengan mudah dipindahkan ke lokasi potensial lainnya. Efektifitas fraksinasi kering sangat tergantung pada tahap reduksi ukuran partikel atau penggilingan (Pelgrom et al., 2015). Untuk memisahkan partikel pati dari serat, digunakan metode klasifikasi udara yang memanfaatkan gaya sentrifugal dan gaya *gravitational*, yang disebabkan oleh aliran udara yang masuk ke dalam ruang klasifikasi sehingga terjadi pemisahan partikel berdasarkan ukuran, bentuk dan berat jenisnya (Wang &

Maximiuk, 2019). Untuk meminimalkan kerusakan pati, Sosulski et al. (1988) menyarankan penggunaan metode *attrition mill* pada tahap reduksi ukuran dan disintegrasi bahan berpati.

Pemanfaatan produk hasil fraksinasi kering menurut Lu et al. (2020) dapat meningkatkan produktifitas etanol karena: 1) ukuran partikel bahan baku lebih kecil sehingga meningkatkan kinerja enzim, 2) karakter struktur, nutrisi dan fungsional pati alami dipertahankan dan bermanfaat untuk *yeast*. Puligundla (2019) menyatakan secara konvensional etanol dihasilkan dengan kadar 7 - 8 % (v/v), untuk meningkatkan konsentrasi produk, digunakan teknologi fermentasi gravitasi tinggi (HG) dengan meningkatkan kandungan pati substrat untuk mendapatkan etanol dengan kadar 12 - 14% (v/v). Gohel dan Duhan (2012) menyatakan untuk menghindari cekaman dari osmolaritas tinggi ditahap awal pertumbuhan *yeast* dan mengurangi resiko kontaminasi, maka direkomendasikan penggunaan metode parsial sakarifikasi - fermentasi (PSF) atau sakarifikasi dan fermentasi simultan (SSF). Menurut Walker & Stewart (2016) rendemen etanol teoritis hasil fermentasi hanya mendekati nilai 95%, karena molekul karbon dari substrat juga dimanfaatkan untuk perkembangbiakan yeast dan biosintesa produk samping. Snoek et al. (2016) menyatakan, *yeast* mampu bertahan pada konsentrasi etanol tinggi karena dapat memanfaatkan etanol untuk respirasi ketika kandungan gula di dalam substrat jumlahnya semakin berkurang. Sedangkan *yeast* dengan kemampuan mengumpul bersama atau berflokulasi untuk meningkatkan kemampuan bertahan hidup pada kondisi nutrisi terbatas (Stewart, 2018).

Pengolahan empulur sagu menggunakan fraksinasi kering dengan metode reduksi ukuran dan pengayakan hingga lolos ayakan ukuran 200 mesh telah dilaporkan oleh Flores et al. (2016). Namun intensitas pada tahap reduksi ukuran dengan proses *cutting* (pemotongan) dan *grinding* (penggilingan) dapat menyebabkan kerusakan pada granula pati sagu, dan mempengaruhi karakteristik tepung kaya pati sagu yang dihasilkan. Schutyser & der Goot (2011) menyimpulkan, *sieve blinding* menjadi kendala pada proses pengayakan, hal ini disebabkan penyumbatan partikel yang lebih besar dari pori ayakan. Untuk mengatasi resiko kerusakan granula pati dan *sieve blinding*, maka digunakan metode tumbukan dan gesekan (*attrition mill*) untuk mereduksi ukuran fraksi parenkima, dan klasifikasi udara untuk meminimalkan potensi *sieve blinding* dengan cara melakukan pemisahan partikel non pati berukuran lebih besar dan berdensitas lebih rendah dari partikel pati.

Perbedaan distribusi ukuran granula pati dan perbedaan perbandingan komposisi pati dan nonpati pada batang sagu berdasarkan usia dan bagian batang secara vertikal telah dilaporkan sebelumnya oleh Hamanishi et al. (1999) dan Achudan et al. (2020). Namun analisa pemanfaatan metode fraksinasi kering pada pengolahan batang sagu berusia 10 tahun belum pernah dilaporkan. Maka dilakukan analisa efektifitas fraksinasi kering menggunakan parameter pengamatan : rendemen (*yield*), efisiensi pemisahan pati (*starch recovery*), peningkatan kadar pati (*starch enrichment*), dan perpindahan pati (*shift starch*) yang digunakan oleh Assatory et al. (2019) dan Xing et al. (2020). Produk tepung kaya pati sagu hasil fraksinasi kering dari bagian batang secara vertikal memiliki kadar pati yang tidak berbeda nyata, karena waktu *attrition mill*, dan kecepatan aliran udara yang diaplikasikan seragam untuk ketiga bagian batang. Maka dilakukan pencampuran dari ketiga produk dengan jumlah yang sama dan digunakan untuk pengujian proses produksi etanol.

Pemanfaatan tanaman sagu untuk bahan baku etanol pada umumnya menggunakan pati sagu (*sago starch*), dan pati sagu yang tidak terekstrak karena masih terjebak dilimbah padat (*sago hampas*) hasil pengolahan batang sagu dengan fraksinasi basah (menggunakan air), sehingga ketersediaan bahan baku sangat tergantung dari kapasitas produksi dan waktu operasional fasilitas yang tersedia. Beberapa teknologi pemanfaatan pati sagu untuk etanol diantaranya: Saifuddin & Hussain (2011) menggunakan perlakuan awal iradiasi mikrowave pati sagu sebelum hidrolisis enzimatis, Hung et al. (2018) menggunakan metode sakarifikasi dan fermentasi simultan pada *sago hampas*. Pengujian proses produksi etanol dari hasil

hidrolisa *sago hampas* dilakukan oleh Mohammad et al. (2020) pada kondisi gravitasi normal, dan Muradi et al. (2020) pada kondisi gravitasi tinggi. Dapat disimpulkan bahwa pati dari tanaman sago sangat potensial untuk digunakan sebagai bahan baku etanol.

Analisa efektifitas fraksinasi kering pada pengolahan empulur sago mulai dari fraksi parenkima, empulur sago menjadi fraksi serbuk kaya pati dan empulur sago menjadi fraksi tepung kaya pati berdasarkan bagian batang secara vertikal dan usia 10 tahun akan memberikan informasi mengenai potensi tanaman sago untuk bahan baku etanol. Nilai ekonomi produk akhir, yaitu fraksi tepung kaya pati sago mengacu pada rekomendasi T. Lin et al. (2011), yang menyimpulkan bahwa biaya penyediaan bahan baku etanol dari bahan berpati menggunakan metode fraksinasi lebih ekonomis dibandingkan metode konvensional lainnya (*wet grind* dan *dry grind*).

Kondisi hidrolisis dan fermentasi pada proses produksi etanol dari bahan berpati merupakan salah satu faktor yang dapat mengurangi biaya produksi (Xu et al., 2016), sehingga perlu dilakukan penentuan kondisi optimum untuk variabel hidrolisis dan fermentasi dan produktifitas etanol hasil fermentasi sebagai responsenya. Desain penelitian *One Factor at A Time* (OFAT) digunakan untuk screening variabel pengujian (Tanco et al., 2009). Variasi variabel kondisi hidrolisis dan fermentasi yang digunakan adalah : 1) kondisi liquifikasi ( $X_1$ ), 2) kondisi sakarifikasi dan fermentasi ( $X_2$ ), 3) Kondisi fermentasi berdasarkan kadar gula total pada awal fermentasi ( $X_3$ ), dan 4) perbedaan karakter *yeast* ( $X_4$ ).

## Tujuan

Tujuan penelitian adalah: menerapkan teknologi bersih pada proses pengolahan empulur sago dan menganalisa efektifitas fraksinasi kering berdasarkan perbedaan bagian batang secara vertikal, serta menentukan kondisi optimum tahap liquifikasi dan fermentasi pada kondisi gravitasi tinggi menggunakan tepung kaya pati sago hasil fraksinasi kering.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Jenis tanaman sago yang digunakan adalah Sagu Molat (*Metroxylon sagus* Rottb), didasarkan pada ciri khas pelepahnya yang tidak berduri (Nanlohy & Gafur, 2020). Berdasarkan informasi pemilik tanaman, pohon sago berusia antara 9 hingga 10 tahun. Diperoleh dari Desa Bumi Raharjo, Bumi Ratu Nuban, kabupaten Lampung Tengah, propinsi Lampung - Indonesia. Batang sago ditebang pada bulan Juli 2022. Pengolahan tual sago dilaksanakan di Kawasan Stasiun Lapangan Kebun Percobaan Anak Tuha, Lampung Tengah, *co-working space* Periset dari Pusat Riset Agroindustri, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional.

Peralatan yang digunakan adalah: unit pengolahan empulur sago terdiri dari *rasper* ubikayu, ayakan horisontal (*reciprocating screen*) dan rumah pengering; unit fraksinasi kering terdiri dari *Powder Grinding Air Classification RT-M010* Rong Tsong Precision technology atau *classifier - mill* dengan dimensi 380 mm x 40 mm, dilengkapi dengan motor 4 HP, dengan 1.725 putaran per menit, *Anemometer* HP-866B digunakan untuk mengukur kecepatan aliran udara, *Cyclone Separator STAIRMAND*; 6,05 cm; diameter silinder 20,05 cm dan bagian *vortex finder* 8,91 cm, dan blower centrifugal dengan motor 4 HP; dengan 1.445 putaran permeniti dan sudu impeller lurus; unit klasifikasi ukuran tepung menggunakan *shaker octagon* dengan ukuran pori ayakan 200 mesh dan 230 mesh, *moisture analyzer Kern PBS 60-3* digunakan untuk mengukur kadar air, dan fasilitas analisa kadar pati berdasarkan gula reduksi pada metode *modified somogy's Method* (Hodge & Davis, 1952), enzim  $\alpha$ -amilase (*trade name Liquozyme Supra 2.2X*) untuk liquifikasi, dan enzim glukosa-amilase (*trade name Dextrozyme GA 1.5X*) untuk sakarifikasi.

Strain yeast yang digunakan merupakan *stock culture* di Kawasan Stasiun Lapangan Kebun Percobaan Anak Tuha, yaitu *Saccharomyces Cerevisiae* Hakken No. 1 (*ethanol tolerance*

*yeast*) (Antoce et al., 1996) dan *Saccharomyces Cerevisiae Watei* (*self-flocculant yeast*). Preservasi *S. cerevisiae* menggunakan kultur agar miring, berisi glukosa (*dextrose glucose*) (1%), *peptone* (0,5%), *yeast extract* (0,3%), *malt extract* (0,3%) dan agar (2%) pada pH 5,5. Setelah pertumbuhan selama 48 jam pada suhu ruang di media agar miring, kultur *yeast* disimpan pada suhu 4 °C sebelum digunakan. Media cair (*liquid medium*) terdiri dari *yeast extract* (0,3%); *malt extract* (0,3%); *peptone* (0,5%); dan glukosa (*dextrose glucose*) (0,7%). Media *Seeding/Inoculum* terdiri dari *molases* 7% dan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0,1%).

## Metode

Pengolahan batang sagu menjadi fraksi tepung kaya pati melalui tiga tahap: 1) pengolahan tual dari batang sagu menjadi fraksi parenkima. Batang sagu dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu tual dari batang bagian atas (TBA), tual dari batang bagian tengah (TBT) dan tual dari batang bagian (TBB). Masing-masing diukur panjang dan diameternya. Setelah dikupas, fraksi empulur diparut dan diayak menggunakan *reciprocating screen* dengan ukuran pori ayakan 10 mesh. Fraksi yang lolos ayakan disebut fraksi parenkima. Dilakukan pengukuran berat, analisa rendemen, kadar air dan kadar pati untuk setiap fraksi empulur dan fraksi parenkima dari ke tiga kelompok. 2) pengolahan fraksi parenkima menjadi fraksi serbuk kaya pati. 1 kg parenkima dimasukkan kedalam *powder grinding*, yang terhubung dengan siklon dan blower hisap. Pada tahap penggilingan dan klasifikasi udara, kondisi yang ditentukan adalah kecepatan aliran udara = 1,0 meter/detik dan waktu = 60 menit. Fraksi yang keluar dari *powder grinding* bersama aliran udara menuju siklon disebut fraksi parenkima berdensitas rendah, dan fraksi yang keluar siklon melalui aliran kebawah disebut fraksi serbuk kaya pati. Dilakukan pengukuran berat, rendemen, kadar air dan kadar pati untuk setiap fraksi serbuk kaya pati dari ke tiga kelompok. 3) pengolahan fraksi serbuk kaya pati menjadi fraksi tepung kaya pati. Klasifikasi ukuran fraksi serbuk kaya pati dilakukan secara bertingkat dengan ukuran pori ayakan 200 dan 230 mesh. Fraksi yang lolos ayakan 230 mesh disebut fraksi tepung kaya pati. Dilakukan pengukuran berat, analisa rendemen, kadar air dan kadar pati dari fraksi tepung kaya pati untuk ke tiga kelompok.

Analisa efektifitas fraksinasi kering, untuk setiap fraksi dari ketiga kelompok menggunakan metoda Xing et al. (2020), terdiri dari pengukuran rendemen, *starch enrichment*, dan *starch recovery*. Rendemen adalah perbandingan massa dari fraksi yang dipisahkan terhadap 100 g bahan baku. *Starh enrichment* adalah persentase peningkatan kandar pati untuk fraksi hasil pemisahan, dan *starch recovery* atau efisiensi pemisahan pati adalah perbandingan berat pati hasil pemisahan terhadap berat pati bahan baku. Selain itu dilakukan pengukuran peningkatan kandungan pati untuk fraksi hasil pemisahan (*shift starch*). *Shift starch* adalah hasil perkalian *starch enrichment* dan rendemen (Assatory et al., 2019).

Pada pengukuran kadar pati, konversi kadar gula total sebagai glukosa menjadi kadar pati dengan faktor konversi 0,9 (McCleary et al., 1997), sedangkan konversi kadar pati basis basah menjadi basis kering menggunakan rumus AOAC Methods 996.11 Assay Protocol, 2022.

Untuk penyiapan inokulum atau *seeding* untuk *yeast Saccharomyces cerevisiae* *Hakken No. 1* and *Watei* dari media agar miring, *yeast* dibiakkan atau ditumbuhkan dalam media cair pada suhu ruang selama 40 jam, selanjutnya dipindahkan dan ditumbuhkan ke media inokulum dan digunakan setelah diinkubasi selama 40 jam.

Tahap hidrolisis secara enzimatik dan fermentasi tepung kaya pati diawali dengan penyiapan media fermentasi. Kadar gula reduksi total (sebagai glukosa) dari ketiga kelompok ketiga bagian batang dengan komposisi yang sama adalah 80%. Kandungan gula total (TS) untuk kondisi gravitasi normal adalah 160 gram dan 180 gram perliter media fermentasi, sedangkan untuk kondisi gravitasi tinggi Tsnya adalah 200 gram dan 240 gram perliter media

fermentasi. Kandungan padatan (*solid loading*) antara 20% untuk TS = 16% hingga 30% untuk TS = 24%.

Berat media fermentasi untuk setiap pengujian adalah 400 gram di dalam erlenmeyer 1.000 mL. Sebelum liquifikasi, ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase sejumlah 0,05% (basis berat TS), sebelum tahap sakarifikasi, ditambahkan 0,2% enzim glukoamilase, urea 0,5% dan NPK 0,1 (basis berat TS). Volume inokulum adalah 5% dari volume media fermentasi. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang, dilakukan pengukuran berat erlenmeyer dan media fermentasi pada interval waktu 8 jam. Laju dan waktu fermentasi ditentukan dari berkurangnya berat erlenmeyer dan media fermentasi, karena terjadi pelepasan molekul CO<sub>2</sub> selama proses fermentasi yang berbanding lurus dengan molekul etanol yang dihasilkan (Johnston, 2019).

Pengukuran kadar glukosa dan kadar etanol setelah fermentasi menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), sampel diambil secara aseptis dan disentrifuse pada 20.000 rpm selama 1 menit. Supernatants disaring menggunakan *nylon filter* ukuran 0.25 dan disimpan dalam *tube* ukuran 1,5 mL pada suhu -20 °C sebelum dilakukan pengukuran. Peralatan HPLC yang digunakan adalah Shimadzu LC - 20A, Tokyo, Japan) yang dilengkapi dengan *oven column* CTO - 20A, *refractive index detector* RID-20A, *Isocratic pump* LC-20AT, yang seluruhnya dikontrol komputer. Pemisahan dan pengukuran konsentrasi glukosa dan etanol dilakukan menggunakan kolom Shimpack SCR 101P, dan air sebagai fasa gerak. Laju alir 1 mL per menit, volume injeksi 20  $\mu$ L dan suhu kolom 80 °C.

Desain pengujian menggunakan *Adaptive one factor at a time* (OFAT) untuk mengidentifikasi kondisi optimum dari empat variabel kondisi hidrolisis dan fermentasi (Tabel 1). Tiga variasi X<sub>1</sub> : suhu sterilisasi (121 °C) selama 20 menit, suhu gelatinisasi (80 °C) selama 60 menit; suhu gelatinisasi (80 °C) selama 60 menit dilanjutkan sterilisasi (121 °C) selama 20 menit. Dua variasi X<sub>2</sub> : parsial sakarifikasi - fermentasi dan sakarifikasi dan fermentasi simultan. Dua variasi X<sub>3</sub> : TS = 160 dan 180 g/l untuk gravitasi normal dan TS = 200, 220, dan 240 g/l untuk gravitasi tinggi. Dua variasi X<sub>4</sub> : *yeast* yang resistan pada konsentrasi etanol (*Hakken No. 1*) yang tinggi dan *yeast* yang berflokulasi secara mandiri (*Watei*).

Setelah fermentasi, dilakukan pengamatan : waktu fermentasi (Y<sub>1</sub>) (jam), Rendemen etanol (Y<sub>2</sub>) (g/g), dan Produktifitas etanol (Y<sub>3</sub>) ((g/l)/h) (Tabel 3, kesesuaian dengan Tabel 1 berdasarkan urutan penomoran). Pengamatan waktu fermentasi dilakukan dengan mengamati kehilangan berat selama proses fermentasi. Waktu akhir ditentukan berdasarkan kehilangan berat  $\leq 0,1$  g seperti yang dilakukan oleh Wu et al., Wu et al. (2006).

Dilakukan 24 kali pengujian (Tabel 1. Variabel kondisi hidrolisis dan fermentasi), dan pengukuran response (Tabel 3 berisi response produktifitas etanol dan parameter pengamatan lainnya berdasarkan urutan penomoran di Tabel 1) untuk satu ulangan. Kondisi optimum menunjukkan respon produktifitas etanol tertinggi. Verifikasi kondisi optimum dilakukan untuk tiga kali pengulangan dan kontrol pada X<sub>4</sub>. Penentuan waktu fermentasi pada tahap verifikasi berdasarkan rekomendasi Ngiem et al. (2017) untuk mengakhiri proses fermentasi ketika konsentrasi etanol mencapai 95% dari total etanol hasil fermentasi.

Analisa produksi etanol, *Theoretical Ethanol Concentration* (g/g, %) adalah 1 g glukosa akan dikonversi menjadi 0,511 g ethanol, dan Berat jenis etanol = 0,8117 g/mL (Lu et al., 2020). etanol teoritis dihitung berdasarkan kandungan total sugar media fermentasi dengan asumsi bahwa seluruh gula terkonversi menjadi ethanol (efisiensi fermentasinya 100%) (Kumar et al., 2018). Rendemen etanol teoritis (%) adalah persentase konsentrasi ethanol hasil fermentasi (g) dibagi etanol teoritis (g), dan produktifitas etanol adalah konsentrasi ethanol hasil fermentasi (g/l) dibagi waktu fermentasi (jam) (Bukhari et al., 2017). Analisa derajat sakarifikasi (%) merupakan perbandingan kadar gula tereduksi (sebagai glukosa) yang dihasilkan dari hidrolisis enzimatis terhadap gula total awal media fermentasi (Strak et al., 2017)

Analisa Statistik dari data hasil pengukuran diameter tual, rendemen kulit, kadar pati empulur, kadar pati parenkima, rendemen dan kadar pati fraksi serbuk kaya pati, rendemen dan kadar pati fraksi tepung kaya pati dari masing-masing kelompok bagian batang; dan verifikasi pengujian proses produksi etanol menggunakan tepung kaya pati (gabungan dengan komposisi yang sama, produk fraksinasi kering dari tiga kelompok bagian batang sagu) dilakukan tiga kali ulangan, dan dianalisa menggunakan ANOVA one-way dan dilanjutkan dengan *post hoc Tukey's test* ( $P < 0.05$ ). Analisa statistika dilakukan dengan menggunakan Statistical Package Minitab trial versi 18.

**Tabel 1.** Faktor-faktor pada penentuan kondisi optimum produksi etanol menggunakan tepung kaya pati sagu dari gabungan kelompok bagian batang hasil fraksinasi kering menggunakan desain *One Factor At a Time* (OFAT)

No.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>
1	121°C; 20 menit	SSF	160	Watei
2	121°C; 20 menit	SSF	200	Watei
3	121°C; 20 menit	SSF	240	Watei
4	121°C; 20 menit	SSF	160	Hakken No. 1
5	121°C; 20 menit	SSF	200	Hakken No. 1
6	121°C; 20 menit	SSF	240	Hakken No. 1
7	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	SSF	180	Watei
8	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	SSF	220	Watei
9	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	SSF	180	Hakken No. 1
10	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	SSF	220	Hakken No. 1
11	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	Parsial SF	160	Watei
12	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	Parsial SF	200	Watei
13	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	Parsial SF	160	Hakken No. 1
14	80°C; 45 min + 121°C; 20 menit	Parsial SF	200	Hakken No. 1
15	80°C; 60 min	SSF	180	Watei
16	80°C; 60 min	SSF	220	Watei
17	80°C; 60 min	SSF	240	Watei
18	80°C; 60 min	SSF	180	Hakken No. 1
19	80°C; 60 min	SSF	220	Hakken No. 1
20	80°C; 60 min	SSF	240	Hakken No. 1
21	80°C; 60 min	Parsial SF	160	Watei
22	80°C; 60 min	Parsial SF	200	Watei
23	80°C; 60 min	Parsial SF	160	Hakken No. 1
24	80°C; 60 min	Parsial SF	200	Hakken No. 1

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengolahan Batang Sagu

Batang sagu yang digunakan panjangnya 6,11 meter, dan diameter  $43,45 \pm 1,92$  cm (karakteristik tual dari bagian batang secara vertikal disajikan di Tabel 2). Secara teoritis rendemen berat pati sagu (berat kering (bk)) terhadap berat batang sagu (berat basah (bb)) adalah 19,38%. Kriteria batang sagu yang digunakan, berdasarkan usia dan rendemen pati sagu sesuai dengan pengamatan yang dilakukan oleh Hamanishi et al. Hamanishi et al. (1999).

Berdasarkan kelompok bagian batang, rendemen kulit TBB lebih tinggi dibandingkan bagian batang lainnya, hal ini selaras dengan infomasi yang diberikan oleh Yater et al. (2019) mengenai lokasi tumbuh pohon sagu, yaitu di daerah yang tidak tergenang air.

Dari Tabel 2, TBT berpotensi menghasilkan pati sagu lebih banyak dibandingkan bagian batang lainnya, walaupun kadar pati TBT tidak berbeda nyata dengan TBB. Sedangkan, komposisi partikel non pati lebih tinggi di TBA dengan kandungan pati lebih rendah dibandingkan bagian batang lainnya. Hasil pengukuran ini, sesuai dengan hasil pengamatan yang dilakukan oleh Pei-Lang et al. (2006) yang menjelaskan terjadinya akumulasi pati

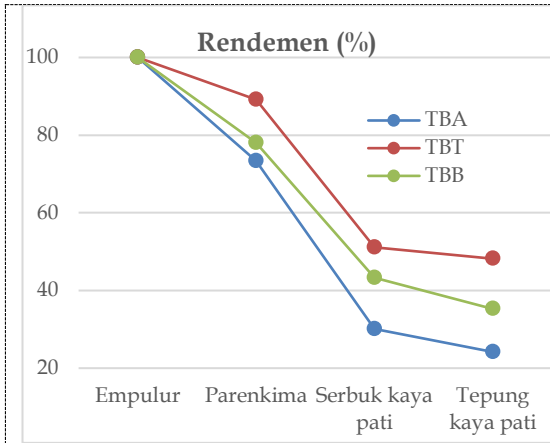
berawal dari bagian bawah ke bagian atas batang sagu pada usia 10 tahun (*Plawei*). Menurut Tie et al. (2008), pada tahap *Plawei* di dominasi oleh pati dengan ukuran granula yang lebih kecil ( $< 30 \mu\text{m}$ ), dan terjadi peningkatan ukuran granula pati sagu hingga tahap pohon sagu berbunga (*Bubul*). Achudan et al. (2020) juga mengkonfirmasi bahwa ukuran granula pati makin berkurang seiring bertambahnya posisi ketinggian batang sagu secara vertikal.

Analisa efektifitas fraksinasi kering untuk nilai rendemen (Gambar 1), TBA menunjukkan nilai rendemen yang paling rendah untuk setiap fraksi hasil pemisahan selaras dengan kadar pati yang lebih rendah dibandingkan bagian batang lainnya. Sedangkan TBB lebih rendah rendemennya dibandingkan TBT, hal ini mengindikasikan bahwa ukuran granula pati yang lebih besar (densitas tinggi) tidak terbawa bersama aliran udara pada tahap penggilingan dan klasifikasi udara. Pengamatan efektifitas untuk *starch recovery* (Gambar 2), TBT menunjukkan nilai tertinggi (diatas 50%), selanjutnya TBB ( $> 35\%$ ), yang mengindikasikan, komponen non pati seperti serat dari TBB jumlahnya lebih besar dibandingkan TBT. Sedangkan TBA komposisi komponen non patinya paling tinggi dengan ukuran granula yang paling kecil. Pada *starch enrichment* (Gambar 3), perbedaan ukuran dan densitas antara pati dan serat dan komposisi serat lebih tinggi dibanding pati (densitas serat lebih rendah dibandingkan densitas pati) dapat meningkatkan efektifitas fraksinasi kering. Pada TBT dan TBB berdasarkan komposisi serat dan pati mengindikasikan perbedaan karakteristik serat di TBT dan TBB, hal ini juga terlihat pada pengukuran *shift starch* (Gambar 4). Tren negatif pada fraksi serbuk kaya pati menjadi tepung kaya pati di TBA di Gambar 4 selaras dengan pengamatan yang dilakukan oleh Xing et al. Xing et al. (2020) hal ini terjadi karena adhesi partikel pati ke partikel serat yang berukuran lebih besar sehingga mengurangi rendemen fraksi yang lolos pori ayakan 230 mesh.

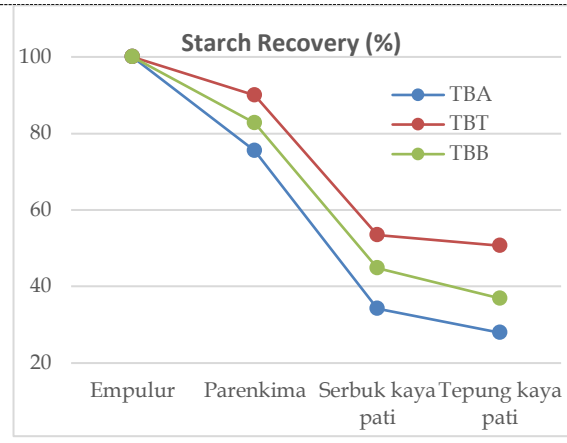
**Tabel 2.** Hasil Analisis Pengolahan Empulur Sagu menjadi Tepung kaya pati menggunakan metode fraksinasi kering mulai empulur saagu ke tahap pemisahan parenkima, penggilingan dan klasifikasi udara (serbuk kaya pati), dan klasifikasi ukuran lolos pori ayakan ukuran 230 mesh (tepung kaya pati).

Parameter	Posisi Tual		
	TBA	TBT	TBB
Panjang Tual (cm)	207,00	201,00	203,00
Diameter Tual (cm)	43,80 $\pm$ 2,39 <sup>a</sup>	44,23 $\pm$ 2,29 <sup>a</sup>	42,32 $\pm$ 0,84 <sup>a</sup>
Berat Tual (kg)	241,00	226,50	216,00
Rendemen Kulit (bb)(%)	29,03 $\pm$ 3,50 <sup>a</sup>	30,43 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	33,69 $\pm$ 2,98 <sup>a</sup>
<b>Empulur</b>			
Berat (bk) (kg)	48,68	65,21	59,81
Kadar Pati (bk) (%)	70,93 $\pm$ 0,794 <sup>a</sup>	78,63 $\pm$ 0,70 <sup>b</sup>	78,06 $\pm$ 1,04 <sup>b</sup>
<b>Fraksi parenkima (dari 100 gr fraksi empulur)</b>			
Rendemen (bk) (%)	73,38	89,15	82,23
Kadar Pati (bk) (%)	72,91 $\pm$ 1,35 <sup>a</sup>	79,38 $\pm$ 1,10 <sup>b</sup>	78,33 $\pm$ 0,90 <sup>b</sup>
<b>Fraksi Serbuk kaya pati (dari 100 gr fraksi parenkima)</b>			
Rendemen (bk) (%)	41,00 $\pm$ 1,00 <sup>a</sup>	57,33 $\pm$ 1,16 <sup>b</sup>	52,50 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>
Kadar Pati (bk) (%)	80,67 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>	82,26 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	80,87 $\pm$ 0,75 <sup>a</sup>
<b>Fraksi Tepung Kaya Pati (dari 100 gr fraksi serbuk kaya pati)</b>			
Rendemen (bk) (%)	80,36 $\pm$ 0,70 <sup>a</sup>	94,27 $\pm$ 0,80 <sup>b</sup>	81,52 $\pm$ 0,77 <sup>a</sup>
Kadar Pati (bk) (%)	81,95 $\pm$ 0,75 <sup>a</sup>	82,68 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	81,72 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>

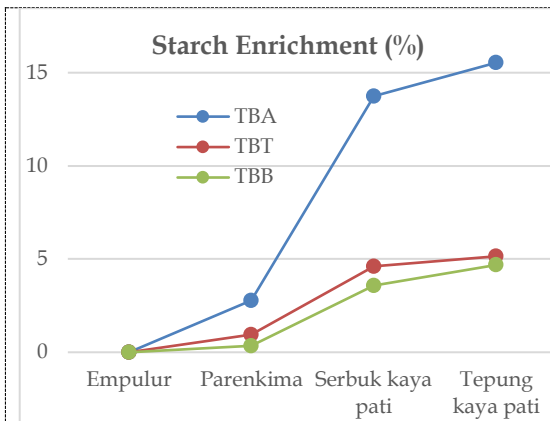




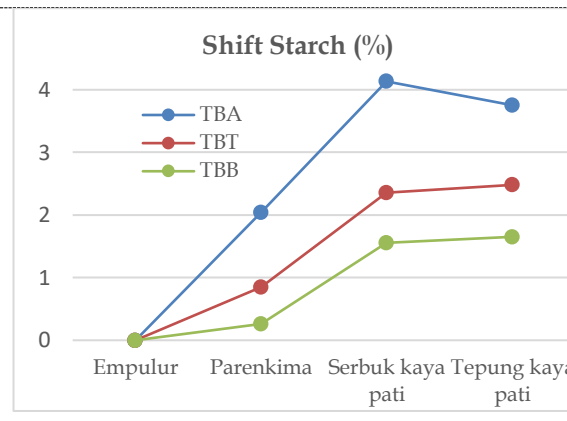
Gambar 1. Rendemen (%) dari setiap fraksi berbasis empulur.



Gambar 2. Starch Recovery (%) dari setiap fraksi berbasis empulur.



Gambar 3. Starch Enrichment (%) dari setiap fraksi berbasis empulur.



Gambar 4. Shift Starch (%) dari setiap fraksi berbasis empulur.

Rendemen tepung kaya pati (bk) yang dihasilkan dari pengujian ini adalah 37,01%, lebih tinggi dibandingkan pengolahan sagu secara komersial yang dilaporkan oleh Santoso (2015) yaitu : 32 %, namun kadar pati produk hasil fraksinasi kering lebih rendah dari produk hasil fraksinasi basah (Assatory et al., 2019).

#### Pemanfaatan fraksi tepung kaya pati untuk bahan baku etanol

Rancangan pengujian menggunakan *adaptive One-Factor-at-a Time* dengan memperhatikan beberapa batasan yang disarankan oleh Czitrom (1999). Interaksi antar variabel tidak dilakukan, pengamatan terbatas pada interaksi antara variabel pengujian dengan response. Hasil pengamatan dan pengukuran dari response  $Y_1$ ,  $Y_2$ , dan  $Y_3$  diberikan di Tabel 3, penomoran di Tabel 1 dan Tabel 3 menunjukkan kesesuaian antara variabel pengujian dan response pengamatan.

**Tabel 3.** Response analisa produksi etanol dari tepung kaya pati sagu dan pengamatan untuk derajat sakarifikasi dan pH sebelum dan setelah proses fermentasi.

No.	Y <sub>1</sub> (Jam)	Y <sub>2</sub> (%)	Y <sub>3</sub> (g/l/jam)	Saccharification degree (%)	pH	
					sebelum fermentasi	setelah fermentasi
1	74	88.46	0.98	4.81	5.73	4.33
2	80	76.48	0.98	4.94	5.86	4.39
3	88	78.43	1.09	5.06	5.92	4.49
4	64	84.59	1.08	4.91	5.85	4.01
5	80	76.64	0.98	5.02	5.86	4.01
6	128	67.64	0.65	5.17	5.98	4.22
7	64	78.63	1.13	9.22	5.44	4.30
8	88	83.68	1.07	10.77	5.81	4.36
9	80	87.98	1.01	9.78	5.65	3.90
10	96	83.75	0.98	9.72	5.92	3.54
11	64	86.77	1.11	79.95	5.90	3.93
12	88	85.62	0.99	83.45	5.77	3.88
13	64	89.05	1.14	87.06	5.86	4.02
14	80	85.86	1.10	88.30	5.84	3.88
15	64	89.39	1.28	8.72	6.27	4.06
16	80	95.42	1.34	9.81	6.31	4.27
17	104	89.48	1.06	12.50	5.84	4.28
18	64	82.95	1.19	9.39	6.27	3.72
19	88	84.46	1.14	9.55	6.34	3.81
20	96	90.94	1.16	15.75	5.74	3.94
21	64	87.17	1.11	52.75	6.81	3.97
22	96	94.59	1.01	48.25	6.78	4.27
23	64	91.73	1.17	59.69	6.80	3.72
24	96	90.54	0.96	57.10	6.65	3.81

Dari hasil Tabel 3, waktu fermentasi terendah adalah 64 jam, rendemen etanol teoritis tertinggi 95,42 g/g, dan produktifitas etanol 1,34 g/l/jam untuk nomor 16. Dari tabel 1, kondisi variabelnya adalah kondisi liquifikasi pada suhu 80 °C selama 60 menit, SSF, kondisi gravitasi tinggi, dan menggunakan *Watei*. Untuk suhu liquifikasi 80 °C hanya menonaktifkan perkembangbiakan mikroorganisme kecuali spora (Pielech-Przybylska et al., 2017). Menurut Agu et al., (2006) penggunaan suhu yang lebih tinggi akan mengurangi gula total karena reaksi *Maillard*. Pengamatan pH dilakukan sebagai indikator kontaminasi dari asam laktat (Wu et al., 2006). Menurut Liu et al. (2012), pada kondisi gravitasi tinggi, produktifitas *yeast* menurun karena membutuhkan waktu untuk beradaptasi, sedangkan *yeast* yang berflokulasi dapat mempersingkat waktu adaptasi karena terjadi perubahan fungsi fisiologis membran dan metabolisme intraselulernya (Y.-H. Lin & Liu, 2014).

Mengacu pada hasil pengamatan Ngiem et al. (2017), fermentasi etanol pada sistem *batch* terjadi dalam tiga tahap. Tahap pertama, durasi waktu 0 - 8 jam, laju produksi etanol sangat rendah, *yeast* beradaptasi pada lingkungan baru dan mengawali masa reproduksi eksponensial. Tahap kedua, durasi waktu 8 - 48 jam, pada kondisi gravitasi normal untuk *Watei*; durasi waktu 8 - 64 jam untuk *Watei* pada kondisi gravitasi tinggi dan *Hakken No. 1* pada kondisi gravitasi normal, dan 8 - 72 jam untuk *Hakken No. 1* pada kondisi gravitasi tinggi, terjadi peningkatan konsentrasi etanol secara linear, glukosa dikonsumsi untuk pertumbuhan dan metabolisme *yeast*. Maltose, maltotriose, dan dextrins dihidrolisis menjadi glukosa dengan segera dimanfaatkan oleh *yeast*. Diawal tahap ketiga (8 jam setelah tahap kedua), gula yang dapat difermentasi telah habis dan konsentrasi ethanol secara perlahan meningkat, sedangkan konsentrasi glukosa hasil hidrolisis dari dekstrin yang tersisa semakin berkurang. Pada tahap ke tiga, hidrolisis sisa dekstrin semakin melambat dan konversi ethanol tidak signifikan. Maka pada tahap verifikasi waktu fermentasi untuk kondisi gravitasi normal (gula

total 180 g/l) ditentukan selama 48 jam dan kondisi gravitasi tinggi (gula total 220 g/l) selama 64 jam, kedua pengujian menggunakan *Watei*. Sebagai kontrol (kondisi hidrolisis, kadar gula total awal fermentasi dan SSF serupa dengan variabel yang diverifikasi, namun waktu fermentasi dan *yeast* berbeda. Untuk gravitas normal selama 64 jam dan gravitasi tinggi selama 72 jam menggunakan *Hakken No. 1*.

**Tabel 5.** Analisa verifikasi proses produksi etanol dari tepung kaya pati untuk liquifikasi suhu 80 °C selama 60 menit dan SSF menggunakan yeast *Watei* dan *Hakken No. 1* sebagai kontrol.

Yeast	<i>Watei</i>		<i>Hakken No. 1</i>	
Gula Total (g)	180	220	180	220
Waktu fermentasi (jam)	48	64	64	72
Derajat sakarifikasi (%)	18,48 ± 0,57 <sup>a</sup>	19,23 ± 0,73 <sup>a</sup>	17,93 ± 0,47 <sup>a</sup>	18,76 ± 0,36 <sup>a</sup>
Rendemen etanol teoritis (%)	83,88 ± 1,83 <sup>c</sup>	89,15 ± 1,30 <sup>ab</sup>	90,84 ± 1,26 <sup>a</sup>	86,04 ± 2,53 <sup>bc</sup>
Produktifitas etanol (%)	1,61 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,56 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,34 ± 0,04 <sup>b</sup>
pH sebelum fermentasi	6,36 ± 0,06 <sup>a</sup>	6,38 ± 0,07 <sup>a</sup>	6,28 ± 0,02 <sup>a</sup>	6,36 ± 0,09 <sup>a</sup>
pH setelah fermentasi	4,02 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,09 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,69 ± 0,06 <sup>b</sup>	3,35 ± 0,06 <sup>c</sup>

Dari hasil pengujian, diketahui bahwa derajat sakarifikasi pada kandungan gula total 180 g dan 220 g memberikan respon yang tidak berbeda nyata, menunjukkan bahwa kinerja  $\alpha$ -amilase tidak berpengaruh untuk kondisi gravitasi normal dan gravitasi tinggi. Untuk rendemen etanol teoritis, konversi gula menjadi etanol pada kondisi gravitasi tinggi memberikan respon yang tidak berbeda nyata antara *Watei* dan *Hakken no. 1*, sedangkan pada kondisi gravitasi normal *Hakken No. 1* memberikan respon yang lebih tinggi dibandingkan *watei*. Untuk produktifitas etanol kondisi gravitasi normal dan gravitasi tinggi tidak berbeda nyata, namun *Watei* memberikan respon yang lebih baik dibandingkan *Hakken No. 1*. pH sebelum fermentasi tidak berbeda nyata, namun nilai pH setelah fermentasi untuk *Hakken No. 1* nilainya lebih rendah dan waktu fermentasi yang lebih lama untuk kadar gula total awal yang serupa.

Produksi ethanol dari ubikayu pada kondisi VHG yang dilakukan oleh Puligundla et al., (2014), kandungan gula total setelah sakarifikasi adalah 290 g/l dan 316,4 g/l, menggunakan *flocculating yeast Saccharomyces bayanus*, konsentrasi akhir etanol (g/l) = 101.8 dan 94,6 g/l; rendemen etanol teoritis = 68,70% dan 58,51%; produktifitas etanol (g/l)/jam = 1,41 dan 1,31. Berdasarkan hasil perbandingan tersebut, etanol yang dihasilkan pada kondisi gravitasi tinggi menggunakan tepung kaya pati sagu menghasilkan etanol 100,05 g/l, namun rendemen etanol teoritis dan produktifitas etanol yang lebih tinggi (89,15% dan 1,56 g/l/jam).

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Pemanfaatan teknologi fraksinasi kering pada pengolahan empulur sagu dengan metode *attrition mill* dan klasifikasi udara untuk mendapatkan fraksi serbuk kaya pati dan klasifikasi ukuran menggunakan ayakan hingga ukuran pori ayakan 230 mesh memberikan rendemen produk lebih tinggi namun kandungan pati yang lebih rendah dibandingkan metoda konvensional. Dari pengamatan yang dilakukan pada efektifitas fraksinasi kering pohon sagu usia 10 tahun dapat disimpulkan bahwa distribusi ukuran granula dan karakteristik serat parenkima dan komposisi komponen pati dan non pati yang berbeda di bagian batang secara vertikal akan mempengaruhi efektifitas pemisahan untuk kondisi perlakuan yang sama. Produk fraksinasi kering, yaitu tepung kaya pati sagu, ukuran granulanya kecil, dan berpotensi mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh *yeast*, maka direkomendasi pemanfaatannya sebagai substrat untuk fermentasi etanol yang menunjukkan produktifitas etanol yang lebih baik pada suhu liquifikasi yang lebih rendah, dan dapat mempersingkat waktu sakarifikasi dan fermentasi dengan menerapkan metode SSF dan peningkatan kadar etanol di media fermentasi dengan menggunakan yeast berflokulasi

mandiri. Dapat ditarik kesimpulan bahwa dengan menggunakan tepung kaya pati dari fraksinasi kering dapat mengurangi biaya penyediaan bahan baku dan menurunkan biaya produksi etanol.

#### **Saran**

Efektifitas fraksinasi kering empulur sago dapat ditingkatkan dengan cara melakukan variasi waktu pada tahap penggilingan dan klasifikasi udara untuk empulur dari batang bagian bawah dan melakukan klasifikasi ukuran partikel dari fraksi parenkima berdensitas tinggi yang tidak terbawa bersama aliran udara (berada diruang penggiling).

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terimakasih atas dukungan dana dari Hibah Penelitian Disertasi Doktor - Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Kepada Masyarakat - Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi No: 15833/IT3.D10/PT.01.02/P/T/2023. Penghargaan juga disampaikan untuk penggunaan sarana dan prasarana di Kawasan Stasiun Lapangan Kebun Percobaan Anak Tuha, Lampung Tengah-Badan Riset dan Inovasi Nasional

#### **CONFLICT OF INTEREST**

Pemberi dana tidak memiliki peran dalam desain penelitian; dalam pengumpulan, analisis, atau interpretasi data; dalam penulisan naskah; atau dalam keputusan untuk mengumumkan hasil penelitian.”

#### **DAFTAR REFERENSI**

- Achudan, S. N., Mohamed, A. M. Dos, Rashid, R. S. A., & Mittis, P. (2020). Yield and physicochemical properties of starch at different sago palm stages. *Materials Today: Proceedings*, 31(1), 122–126. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.341>
- Agu, R. C., Bringhurst, T. A., & Brosnan, J. M. (2006). Production of Grain Whisky and Ethanol from Wheat, Maize and Other Cereals. *Journal of the Institute of Brewing*, 112(4), 314–323. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2006.tb00737.x>
- Antoce, O. A., Pomohaci, N., Antoce, V., Fukada, H., Takahashi, K., Kawasaki, H., Amano, N., & Amachi, T. (1996). Application of calorimetry to the study of ethanol tolerance of some yeast strains. *Biocontrol Science*, 1(1), 3–10. <https://doi.org/10.4265/bio.1.3>
- Aruwajoye, G. S., Kassim, A., Saha, A. K., & Gueguim Kana, E. B. (2020). Prospects for the improvement of bioethanol and biohydrogen production from mixed starch-based agricultural wastes. In *Energies* (Vol. 13, Issue 24). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/en13246609>
- Assatory, A., Vitelli, M., Rajabzadeh, A. R., & Legge, R. L. (2019). Dry fractionation methods for plant protein, starch and fiber enrichment: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 340–351. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.006>
- Bantacut, T., Bintoro, M. H., Zuhud, E. A. M., Damayanthi, E., Arifin, H. S., Widanarni, & Ismayana, A. (2020). *Policy Brief Pembangunan Sagu Terpadu dan Berkelanjutan 2020* (Cetakan 1.). Percetakan IPB.

- Bintoro, M. H., Iqbal Nurulhaq, M., Pratama, A. J., Ahmad, F., & Ayulia, L. (2018). Growing Area of Sago Palm and Its Environment BT - Sago Palm: Multiple Contributions to Food Security and Sustainable Livelihoods. In H. Ehara, Y. Toyoda, & D. V Johnson (Eds.), *Sago palm* (pp. 17-29). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-5269-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5269-9_2)
- Bukhari, N. A., Loh, S. K., Bakar, N. A., & Ismail, M. (2017). Hydrolysis of Residual Starch from Sago Pith Residue and Its Fermentation to Bioethanol. *Sains Malaysiana*, 46(8), 1269-1278. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2017-4608-12>
- Czitrom, V. (1999). One-Factor-at-a-Time versus Designed Experiments. *The American Statistician*, 53(2), 126-131. <https://doi.org/10.2307/2685731>
- Dalimunthe, L. H., Rana, G. K., Ekasari, N., Iskak, P. I., & Sutriswanto, S. (2019). *Sagu (Metroxylon Sagu Rottb.)* (E. Setyorini & S. Sutriswanto, Eds.; 1st ed.). Pusat Perpustakaan dan Penyebaran Teknologi Pertanian Kementerian Pertanian.
- Direktorat Jenderal Perkebunan Kementerian Pertanian. (2019). *Statistik Perkebunan Indonesia sagu (Sagu) 2018-2020* (D. Gartina & R. L. L. Sukriya, Eds.). Sekretariat Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Flores, D., Paluga, M., & Ragragio, A. M. (2016). The Indigenous Dry Method of Sago Starch Extraction from Argao, Cebu, in the Central Philippines: Process Documentation and Flour Laboratory Analysis. In *Mapping Sago: Anthropological, biophysical, and economic aspects* (Issue November 2017, pp. 15-24).
- Funke, M., Boom, R., & Weiss, J. (2022). Dry fractionation of lentils by air classification - Composition, interfacial properties and behavior in concentrated O/W emulsions. *LWT*, 154, 112718. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112718>
- Gohel, V., & Duan, G. (2012). Conventional process for ethanol production from Indian broken rice and pearl millet. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35(8), 1297-1308. <https://doi.org/10.1007/s00449-012-0717-1>
- Hamanishi, H., Hatta, T., Jong, F.-S., Takahashi, S., & Kainuma, K. (1999). Physicochemical Parts of Sago Properties Palm of Starches Trunks Obtained from Various at Different Growth. *Journal of Applied Glycoscience*, 46(1), 39-48. <https://doi.org/https://doi.org/10.5458/jag.46.39>
- Hodge, J. E., & Davis, H. A. (1952). *Selected Methods for Determining Reducing Sugar*. Agricultural Research Administration Bureau of Agricultural and Industrial Chemistry.
- Hung, H. C., Adeni, D. S. A., Johnny, Q., & Vincent, M. (2018). Production of Bioethanol from Sago Hampas via Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). *Nusantara Bioscience*, 10(4), 240-245. <https://doi.org/DOI:10.13057/nusbiosci/n100407>
- Indonesia.go.id. (2023, January 20). *Indonesia Boosts the Development of Bioethanol to Reduce Fuel Import*. <https://Indonesia.Go.Id/Kategori/Editorial/6815/Indonesia-Boosts-the-Development-of-Bioethanol-to-Reduce-Fuel-Import?Lang=2>.

- Johnston, D. B. (2019). Grain sorghum fractionation in a modified dry grind ethanol process that includes production of an enriched protein fraction. *Cereal Chemistry*, 96(5), 920–926. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cche.10195>
- Kumar, D., Juneja, A., & Singh, V. (2018). Fermentation technology to improve productivity in dry grind corn process for bioethanol production. *Fuel Processing Technology*, 173, 66–74. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.01.014>
- Lin, T., Rodríguez, L. F., Li, C., & Eckhoff, S. R. (2011). An engineering and economic evaluation of wet and dry pre-fractionation processes for dry-grind ethanol facilities. *Bioresource Technology*, 102(19), 9013–9019. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.013>
- Lin, Y.-H., & Liu, C.-G. (2014). Process Design for Very-high-gravity Ethanol Fermentation. *Energy Procedia*, 61, 2725–2728. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.12.289>
- Liu, C.-G., Wang, N., Lin, Y.-H., & Bai, F.-W. (2012). Very high gravity ethanol fermentation by flocculating yeast under redox potential-controlled conditions. *Biotechnology for Biofuels*, 5(1), 61. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-61>
- Lu, Y., Chae, M., Vasanthan, T., & Bressler, D. C. (2020). The potential of fiber-depleted starch concentrate produced through air currents assisted particle separation of barley flour in bio-ethanol production. *Bioresource Technology*, 303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122942>
- Mccleary, B. V, Gibson, T. S., Mugford, D. C., & Collaborators: (1997). Measurement of Total Starch in Cereal Products by Amyloglucosidase- $\alpha$ -Amylase Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 80(3), 571–579. <https://doi.org/10.1093/jaoac/80.3.571>
- Mohammad, S., Awg-Adeni, D. S., Bujang, K. B., Vincent, M., & Baidurah, S. (2020). Potentials of sago fibre hydrolysate (SFH) as a sole fermentation media for bioethanol production. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 716(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/716/1/012001>
- Muradi, N. A., Adeni, D. S. A., & Suhaili, N. (2020). Enhancement of very high gravity bioethanol production via fed-batch fermentation using sago hampas as a substrate. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 28(3), 44–51. <https://doi.org/10.35118/apjmbb.2020.028.3.05>
- Myburgh, M. W., Rose, S. H., & Viljoen-Bloom, M. (2020). Evaluating and engineering *Saccharomyces cerevisiae* promoters for increased amylase expression and bioethanol production from raw starch. *FEMS Yeast Research*, 20(6). <https://doi.org/10.1093/femsyr/foaa047>
- Nanlohy, L. H., & Gafur, M. A. A. (2020). Potensi Pati Sagu Dan Pendapatan Masyarakat. *Median*, 12(1), 21–27. <https://doi.org/http://doi.org/md.v12i1.211>

- Nghiem, N. P., Brooks, W. S., Griffey, C. A., & Toht, M. J. (2017). Production of Ethanol From Newly Developed and Improved Winter Barley Cultivars. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 182(1), 400–410. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2334-y>
- Oke, M. A., Annuar, M. S. M., & Simarani, K. (2016). Mixed Feedstock Approach to Lignocellulosic Ethanol Production – Prospects and Limitations. *Bioenergy Research*, 9(4), 1189–1203. <https://doi.org/10.1007/s12155-016-9765-8>
- Pei-Lang, A. T., Mohamed, A. M. D., & Karim, A. A. (2006). Sago starch and composition of associated components in palms of different growth stages. *Carbohydrate Polymers*, 63(2), 283–286. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861705004546>
- Pelgrom, P. J. M., Boom, R. M., & Schutyser, M. A. I. (2015). Method development to increase protein enrichment during dry fractionation of starch-rich legumes. *Food and Bioprocess ...*, 8(July 2015), 1495–1502. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1513-0>
- Pielech-Przybylska, K., Balcerek, M., Nowak, A., Wojtczak, M., Czyzowska, A., Dziekonska-Kubczak, U., & Patelski, P. (2017). The effect of different starch liberation and saccharification methods on the microbial contaminations of distillery mashes, fermentation efficiency, and spirits quality. *Molecules*, 22(10). <https://doi.org/10.3390/molecules22101647>
- Puligundla, P., Obulam, V. S. R., & Chulkyoon, M. (2014). Preparation of very high gravity cassava mashes and subsequent fermentation to ethanol using *Saccharomyces bayanus*. *Romanian Biotechnological Letters*, 19, 9925–9931.
- Puligundla, P., Smogrovicova, D., Mok, C., & Obulam, V. S. R. (2019). A review of recent advances in high gravity ethanol fermentation. In *Renewable Energy* (pp. 1366–1379). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.06.062>
- Rempel, C., Geng, X., & Zhang, Y. (2019). Industrial scale preparation of pea flour fractions with enhanced nutritive composition by dry fractionation. *Food Chemistry*, 276, 119–128. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.003>
- Saifuddin, N., & Hussain, R. (2011). Microwave Assisted Bioethanol Production from Sago Starch by Co-Culturing of Ragi Tapai and *Saccharomyces Cerevisiae*. *Journal of Mathematics and Statistics*, 7, 198–206. <https://doi.org/10.3844/jmssp.2011.198.206>
- Santoso, B., Sakakura, K., Naito, H., Ohmi, M., Nishimura, Y., Uchiyama, T., Itaya, A., Hisamatsu, M., Ehara, H., & Mishima, T. (2015). Effects of Micro Powder Milling on Physicochemical Properties of Sago Starch. *Journal of Applied Glycoscience*, 62(2), 73–80. [https://doi.org/10.5458/jag.jag.jag-2015\\_008](https://doi.org/10.5458/jag.jag.jag-2015_008)
- Schutyser, M. A. I., & der Goot, A. J. Van. (2011). The potential of dry fractionation processes for sustainable plant protein production. *Trends in Food Science & Technology*, 22(4), 154–164. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.006>
- Snoek, T., Verstrepen, K. J., & Voordeckers, K. (2016). How do yeast cells become tolerant to high ethanol concentrations? In *Current Genetics* (Vol. 62, Issue 3, pp. 475–480). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00294-015-0561-3>

- Sosulski, F. W., Nowakowski, D. M., & Reichert, R. D. (1988). Effects of Attrition Milling on Air Classification Properties of Hard Wheat Flours. *Starch - Stärke*, 40(3), 100-104. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.19880400305>
- Stewart, G. G. (2018). Yeast flocculation – sedimentation and flotation. In *Fermentation* (Vol. 4, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020028>
- Strak, E., Balcerek, M., & Dziekonska-Kubczak, U. (2017). Fermentation efficiency of high-gravity rye mashes using pressureless starch liberation methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 35(3), 267-273. <https://cjfs.agriculturejournals.cz/artkey/cjf-201703-0012.php>
- Tanco, M., Viles, E., & Pozueta, L. (2009). Comparing Different Approaches for Design of Experiments (DoE). In S.-I. Ao & L. Gelman (Eds.), *Advances in Electrical Engineering and Computational Science* (pp. 611-621). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-2311-7\\_52](https://doi.org/10.1007/978-90-481-2311-7_52)
- Tie, A. P., Karim, A. A., & Manan, D. M. A. (2008). Physicochemical Properties of Starch in Sago Palms (*Metroxylon sagu*) at Different Growth Stages. *Starch - Stärke*, 60(8), 408-416. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.200700707>
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. In *Beverages* (Vol. 2, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
- Wang, N., & Maximiuk, L. (2019). Effect of air classification processing variables on yield, composition, and certain antinutrients of air-classified fractions from field peas by response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(7), e13999. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.13999>
- Wu, X., Wang, D., Bean, S. R., & Wilson, J. P. (2006). Ethanol Production from Pearl Millet Using *Saccharomyces cerevisiae*. *Cereal Chemistry*, 83(2), 127-131. <https://doi.org/https://doi.org/10.1094/CC-83-0127>
- Xing, Q., Utami, D. P., Dematthey, M. B., Kyriakopoulou, K., de Wit, M., Boom, R. M., & Schutyser, M. A. I. (2020). A two-step air classification and electrostatic separation process for protein enrichment of starch-containing legumes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102480. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102480>
- Xu, Q.-S., Yan, Y.-S., & Feng, J.-X. (2016). Efficient hydrolysis of raw starch and ethanol fermentation: a novel raw starch-digesting glucoamylase from *Penicillium oxalicum*. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 216. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0636-5>
- Yater, T., Tubur, H. W., Meliala, C., & Abbas, B. (2019). Short communication: A comparative study of phenotypes and starch production in sago palm (*Metroxylon sagu*) growing naturally in temporarily inundated and non inundated areas of south Sorong, Indonesia. *Biodiversitas*, 20(4), 1121-1126. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200425>



Zabed, H., Sahu, J. N., Suely, A., Boyce, A. N., & Faruq, G. (2017). Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 71, 475-501.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.076>