



Optimasi Proses Hidrolisis Pati Tapioka Menggunakan Glukoamilase Terimobilisasi pada Silika MCF 9.2T-3D Berdasarkan *Response Surface Methodology (Box-Behnken Design)*

Joni Agustian*, Lilis Hermida, dan Pia Sabrina Murtadho

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Lampung,
Jalan Prof. S. Brodjonegoro No. 1, Gedong Meneng, Rajabasa, Bandar Lampung 35145, Lampung-Indonesia

*E-mail: joni.agustian@eng.unila.ac.id

Abstract

Hydrolysis of tapioca using immobilized glucoamylase was studied following a statistical experimental design. The Response Surface Methodology (RSM) based on Box-Behnken design was used in order to obtain optimum operating conditions for the hydrolysis process and to obtain the influence of interaction between variables. There were 3 (three) variables used in this study, i.e. temperature, pH of acetate buffer and agitation speed, which were varied in 3 (three) levels. It was found that the suitable model for this process was the quadratic model. Fit of the model was expressed by the coefficient of determination (R^2), which was to be 0.9978 indicating that 99.78% of the variability in the response can be explained by the model. Significance of the model was validated by the F-test for ANOVA, namely $p \leq 0.0001$. The model validation showed a good agreement between the experimental results and the predicted responses. The statistical analysis also showed that the optimum dextrose equivalent value (68.406% (w/w)) were obtained at 70°C, 140 rpm and pH 4.6.

Keywords: *Response Surface Methodology, Box-Behnken Design, Enzymatic Hydrolysis, Immobilized Glucoamylase, MCF Silica*

Pendahuluan

Penggunaan bioetanol sebagai bahan bakar alternatif untuk mengurangi bahan bakar fosil telah berkembang pesat (Liguori dkk, 2015). Bioetanol dianggap sebagai sumber energi terbarukan yang menjanjikan dan ramah lingkungan serta merupakan *biofuel* utama yang digunakan di dunia (Ruiz dkk, 2011). Saat ini, bahan baku utama dalam produksi bioetanol adalah tebu dan pati singkong (Eiadpurn dkk, 2012). Pada industri etanol berbasis singkong, kandungan karbohidrat harus dikonversi terlebih dahulu menjadi gula reduksi dengan metode hidrolisis asam atau enzimatis sebelum proses fermentasi mikrobial (Azmi dkk, 2012). Proses hidrolisis pati singkong secara enzimatis biasanya dilakukan dengan enzim bebas α -amilase dan glukoamilase (Jacques dkk, 2003). Dengan metode ini, proses konversi pati singkong menjadi gula reduksi dapat dilakukan dalam satu tahapan (*single stage*), sehingga dapat mengurangi biaya penggunaan energi dan waktu fermentasi (Krajang dan Chamsart, 2015). Namun, penggunaan enzim bebas dalam proses hidrolisis masih memiliki beberapa kekurangan, seperti hanya sekali pakai dan tidak tahan terhadap perubahan kondisi (Nisha dkk, 2012). Untuk mengatasi kekurangan tersebut dikembangkanlah teknologi imobilisasi enzim, dimana enzim akan melekat pada permukaan material *support* yang bersifat *inert* sehingga aktivitasnya dapat terkontrol dengan baik dan setelah proses hidrolisis berlangsung, enzim terimobilisasi dapat difiltrasi dan diresirkulasi (Bryjak, 2003; Parshad dkk, 2008). Saat ini, proses imobilisasi dengan berbagai material *support* telah banyak dipelajari yang salah satunya adalah silika *mesoporous cellular foam* (MCF). Oleh karena itu, dipertimbangkan perlu dilakukan optimasi penggunaan enzim glukoamilase terimobilisasi pada silika MCF (9.2T-3D) dalam menghidrolisis pati tapioka menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) berdasarkan *Design of Experimental* (DOE) agar kondisi optimum proses dapat diketahui dengan mempertimbangkan pengaruh interaksi antar parameter operasi (Soyer dkk, 2010). RSM telah terbukti menjadi metode yang efisien untuk mengoptimalkan setiap tahap proses produksi bioetanol, yang secara signifikan mengurangi waktu, biaya dan usaha yang terkait dengan teknik eksperimen konvensional (Sebayang dkk, 2017).

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *water bath shaker* (Medline BS31), UV-VIS spektrofotometer (Shimadzu UV-1800), *centrifuge*, erlenmeyer, *hot plate*, termometer, pH meter, mikro pipet, kertas





saring, gelas beker, gelas ukur, tabung reaksi, neraca elektrik, lemari pendingin, dan spatula. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim glukoamilase dengan aktivitas sebesar 30.000 U/g (Xian Lyphar Biotech Co., Ltd (Shaanxi, China)), *soluble starch* (Merck), glukosa (Merck), pati tapioka (pasar lokal) dan *buffer* sodium asetat.

Uji Aktivitas Spesifik dan *Reusability* Enzim Glukoamilase Terimobilisasi

Aktivitas enzim glukoamilase bebas dan glukoamilase terimobilisasi ditentukan berdasarkan metode Bernfeld (1995) mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Milosavic dkk, (2007). Aktivitas masing-masing enzim glukoamilase diuji dengan cara menginkubasi enzim kedalam 25 ml larutan *soluble starch* 4% (w/v) pada pH *buffer* sodium asetat 0,05M dengan suhu 60°C dan kecepatan pengadukan yang konstan. Sampel campuran reaksi sebanyak 1 ml diambil pada setiap 5 (lima) menit selama 30 menit dan selanjutnya dipisahkan antara cairan dan padatan pada sampel tersebut dengan menggunakan *centrifuge*. Efektivitas gula reduksi yang terbentuk ditentukan dengan metode DNSA. Aktivitas spesifik glukoamilase dihitung dalam satuan unit (U) per gram enzim glukoamilase. Satu unit enzim (U) didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mampu mengkonversi 1 (satu) µM substrat tiap menit. Sedangkan uji *reusability* enzim glukoamilase terimobilisasi dilakukan setelah kondisi optimum proses hidrolisis diperoleh dan efektivitas gula reduksi yang terbentuk juga ditentukan dengan metode DNSA.

Optimasi Hidrolisis Pati Tapioka

Optimasi proses hidrolisis pati tapioka menggunakan glukoamilase terimobilisasi dilakukan dengan menggunakan *Response Surface Methodology (RSM)* berdasarkan *Box-Behnken design* yang tersedia dalam *software design expert* versi 6.06 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA). Variabel independen yang meliputi pH *buffer* sodium asetat (4,3, 4,6 dan 4,9), suhu (65,70 dan 75°C) dan kecepatan pengadukan (130,140 dan 150 rpm) dikombinasikan sehingga diperoleh 17 percobaan. Proses hidrolisis dilakukan dengan cara melarutkan pati tapioka dengan konsentrasi 3% (w/v) dan glukoamilase terimobilisasi sebanyak 400 mg kedalam 30 ml *buffer* sodium asetat 0,1M didalam *water bath shaker* selama 8 (delapan) jam.

Metode Analisis Gula Reduksi

Gula reduksi yang terbentuk pada proses hidrolisis dianalisis dengan metode *Dinitrosalicylic Acid (DNSA)*. Dimana, kedalam tabung reaksi ditambahkan 0,3 ml sampel dan 0,3 ml reagen DNSA. Tabung reaksi dipanaskan pada air mendidih selama 7 menit. Kemudian ditambahkan 3 ml akuades. Selanjutnya sampel dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Gula reduksi yang terbentuk dinyatakan dalam bentuk nilai *dextrose equivalent (DE)* dengan persamaan berikut.

$$\%DE = \frac{\text{gula reduksi terbentuk yang dinyatakan dalam glukosa (gram)}}{\text{berat substrat (gram)}} \dots\dots\dots (1)$$

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas Enzim Glukoamilase

Aktivitas enzim glukoamilase ditentukan berdasarkan metode Bernfeld (1955) dengan prinsip kerja berupa pengukuran jumlah dekstrosa yang terhidrolisis setelah dipisahkan dari substrat berupa *soluble starch*. Laju pembentukan dekstrosa inilah yang dijadikan tolak ukur aktivitas enzim glukoamilase. Berdasarkan hasil analisis, diperoleh aktivitas spesifik glukoamilase bebas dan terimobilisasi sebesar 30.335,17 U/gr dan 1856,78 U/gr. Nilai aktivitas enzim glukoamilase tersebut menunjukkan bahwa dalam tiap 1 (satu) gram enzim glukoamilase bebas dan glukoamilase terimobilisasi berurut-turut terdapat aktivitas sebesar 30.335,17 unit dan 1856,78 unit. Penurunan aktivitas glukoamilase setelah proses imobilisasi dilakukan dapat disebabkan karena enzim glukoamilase terimobilisasi mengalami perubahan struktur (konformasi) sehingga menyebabkan substrat tidak dapat lagi atau mengalami hambatan dalam memasuki sisi aktif untuk berikatan dengan enzim membentuk produk.

Optimasi Proses Hidrolisis Pati Tapioka

RSM berdasarkan *Box-Behnken Design (BBD)* digunakan untuk mengoptimasi parameter operasi pada proses hidrolisis pati tapioka menggunakan glukoamilase terimobilisasi dan memperkirakan interaksi antar parameter operasi dengan jumlah percobaan yang lebih sedikit dibandingkan *Central Composite Design* (Sebayang dkk, 2017 dan Manohar dkk, 2013). Model polinomial yang menyatakan hubungan antara DE dengan ketiga faktor yang divariasikan ditunjukkan pada Persamaan (2).

$$Y = 68,41 - 9,19A + 23,63B - 2,45C - 5A^2 - 30,35B^2 - 5,23C^2 - 3,64AB - 1,12AC - 2,04BC \dots\dots\dots (2)$$

Pada Persamaan (2), Y menyatakan persen dekstrosa yang terbentuk (mg/mL), A menyatakan pH *buffer* sodium asetat, B menyatakan suhu (°C) dan C menyatakan kecepatan pengadukan (rpm). Persamaan tersebut menunjukkan bahwa persen dekstrosa akan meningkat berbanding lurus dengan peningkatan komponen suhu yang ditunjukkan dengan nilai konstanta bertanda positif dan menunjukkan bahwa suhu memberikan pengaruh yang sinergis terhadap



proses hidrolisis yang dilakukan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Bahri dkk, (2012), bahwa suhu merupakan faktor yang memberikan dampak besar pada aktivitas enzim amilase.

Tabel 1 menunjukkan persen dekstroza yang diprediksi oleh software dan persen dekstroza aktual yang diperoleh setelah percobaan. Berdasarkan tabel tersebut, dapat diketahui bahwa persen dekstroza yang didapatkan berada pada rentang 6,146-69,499%. Persen dekstroza tertinggi didapatkan pada kondisi 70°C, 130 rpm dan *buffer* sodium asetat pH 4,3, sedangkan persen dekstroza terendah didapatkan pada kondisi 65°C, 140 rpm dan *buffer* sodium asetat 0,1M pH 4,9. Hasil tersebut kemudian dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) untuk mengidentifikasi model yang didapatkan dan pengaruh parameter operasi terhadap respon (DE) menggunakan *Fisher's F-test* dan *Student's T-test* (Qiu dkk, 2013). *Student's T-test* digunakan untuk menentukan kesignifikanan koefisien regresi (R^2) dan masing-masing faktor dengan menggunakan nilai standar *p-value*. Sedangkan *Fisher's F-test* merupakan ukuran seberapa baiknya suatu faktor dalam menjelaskan variasi data. Secara umum, *F-value* yang tinggi dan *p-value* yang kecil menunjukkan adanya hubungan antar koefisien yang lebih signifikan (Nadir dkk, 2010; Arunachalam dkk, 2011).

Tabel 1. Hasil Percobaan Menggunakan Desain Box-Behnken

Run	Faktor			Respon DE (%(w/v))	
	A	B (°C)	C (rpm)	Aktual	Prediksi
1	4,6	65	130	8,768	9,61
2	4,6	70	140	68,406	68,41
3	4,6	70	140	68,406	68,41
4	4,3	65	140	15,033	14,99
5	4,9	65	140	6,146	3,187
6	4,9	75	140	43,818	43,86
7	4,9	70	150	44,613	45,41
8	4,3	75	140	67,248	66,04
9	4,6	70	140	68,406	68,41
10	4,3	70	130	69,499	68,7
11	4,6	70	140	68,406	68,41
12	4,6	70	140	68,406	68,41
13	4,6	75	150	52,818	51,97
14	4,9	70	130	51,121	52,55
15	4,3	70	150	67,466	66,04
16	4,6	65	150	7,307	8,78
17	4,6	75	130	62,422	60,95

Tabel 2. Summary of Model Statistic

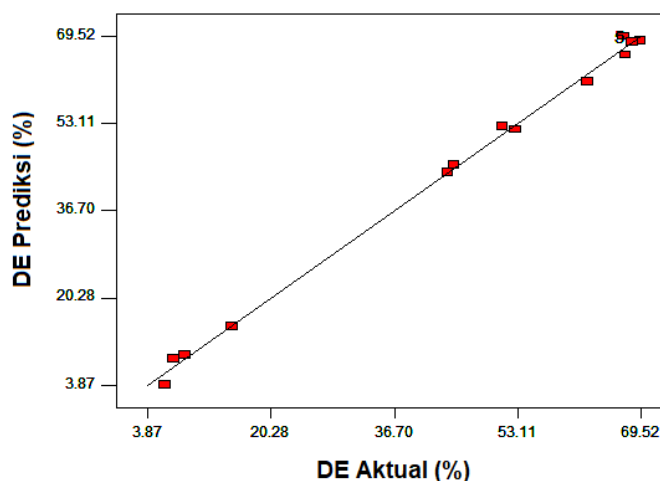
Source	Std. Dev.	R^2	Adjusted R^2	Predicted R^2	Ket.
Linear	18,35	0,5426	0,4371	0,22	
2FI	20,74	0,5504	0,2806	-0,5461	
<u>Quadratic</u>	<u>1,75</u>	<u>0,9978</u>	<u>0,9949</u>	<u>0,9641</u>	<u>Disarankan</u>
Cubic	0,000	1,0000	1,0000		Aliased

Koefisien korelasi (R^2) dan standar deviasi digunakan untuk mengevaluasi model yang dikembangkan. Apabila nilai R^2 mendekati 1 maka standar deviasi (SD) lebih kecil dan model semakin baik untuk memprediksi respon. Tabel 2 menunjukkan bahwa model kuadrat memiliki standar deviasi yang relatif kecil yaitu 1,75 dan nilai R^2 yang relatif tinggi yaitu 0,9978. Ini berarti 99,78% data percobaan relevan dan hanya 0,22% dari total variasi yang tidak dapat dijelaskan oleh model. Berdasarkan Tabel 2 juga dapat dilihat bahwa model kuadrat untuk respon DE tidak *aliased*. Hal ini berarti bahwa model kuadrat dapat digunakan untuk menggambarkan hubungan antara respon dan variabel interaksi. Sedangkan Tabel 3 menunjukkan hasil ANOVA untuk model kuadrat yang diperoleh pada proses hidrolisis pati tapioka menggunakan enzim glukamilase terimobilisasi. Model dengan nilai *F-value* 345,53 dan *p-value* <0,0001 menunjukkan bahwa model kuadrat yang disarankan merupakan model yang signifikan. Sedangkan variabel bebas berupa pH (A), suhu (B) dan suhu kuadrat (B^2) menunjukkan nilai *p-value* <0,0001. Hal ini berarti bahwa faktor-faktor tersebut mempunyai pengaruh yang sangat signifikan terhadap proses hidrolisis yang dilakukan (Nadir dkk, 2010).

Tabel 3. Analysis of Variance (ANOVA)

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	Prob > F	Ket.
Model	9546,49	9	1060,72	345,53	< 0,0001	Signifikan
A	676,16	1	676,16	220,26	< 0,0001	
B	4467,58	1	4467,58	1.455,31	< 0,0001	
C	48,05	1	48,05	15,65	0,0055	
A ²	105,24	1	105,24	34,28	0,0006	
B ²	3877,23	1	3877,23	1.263,01	< 0,0001	
C ²	115,25	1	115,25	37,54	0,0005	
AB	52,87	1	52,87	17,22	0,0043	
AC	5,01	1	5,01	1,63	0,2423	
BC	16,58	1	16,58	5,40	0,0531	
Residual	21,49	7	3,07			
Lack of Fit	21,49	3	7,16			
Pure Error	0,000	4	0,000			
Cor Total	9567,98	16				

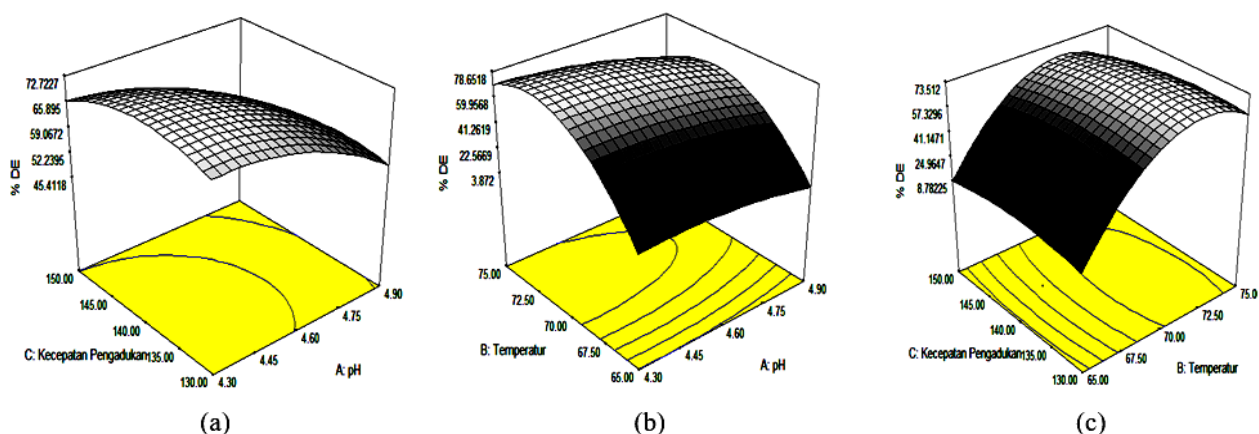
Berdasarkan hasil percobaan yang dimasukkan kedalam *software* DOE, maka kondisi optimum proses hidrolisis pati tapioka menggunakan glukoamilase terimobilisasi pada penyangga silika MCF 9.2T-3D dapat ditentukan. Hasilnya, diperoleh kondisi optimum pada suhu 70°C, kecepatan pengadukan 140 rpm dan pH *buffer* asetat 0,1M 4,6 dengan persen dekstrosa yang dihasilkan sebesar 68,406%. Persen dekstrosa prediksi diplot berlawanan dengan persen dekstrosa aktual yang diperoleh pada percobaan, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan gambar tersebut, dapat diamati bahwa seluruh titik data yang menunjukkan persen dekstrosa berada hampir tepat pada garis regresi. Hal ini menunjukkan adanya kesesuaian antara data yang diprediksi dengan data hasil percobaan.



Gambar 1. Ketepatan nilai respon DE prediksi vs DE aktual

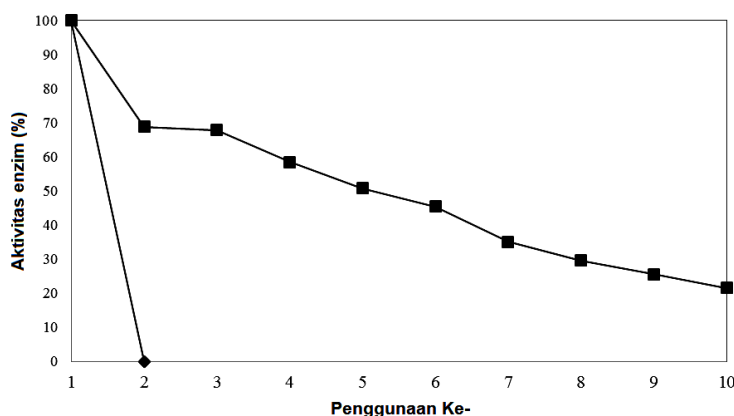
Interaksi Antar Parameter Operasi

Pada penelitian ini, parameter operasi proses hidrolisis pati tapioka yang meliputi suhu, pH *buffer* sodium asetat dan kecepatan pengadukan divariasikan dengan tujuan untuk menentukan pengaruh interaksi antar parameter tersebut terhadap persen dekstrosa yang dihasilkan. Hubungan antara persen dekstrosa dan ketiga parameter yang mempengaruhinya ditunjukkan oleh grafik *three-dimensional* (3D) *response surface* pada Gambar 2a-c. Gambar 2a menunjukkan bahwa interaksi antara pH dan kecepatan pengadukan tidak terlalu signifikan terhadap proses hidrolisis yang dilakukan dengan persen dekstrosa tertinggi yang dihasilkan sebesar 66,185%. Gambar 2b menunjukkan bahwa interaksi antara pH dan suhu cukup signifikan terhadap persen dekstrosa yang didapatkan, dimana suhu memberikan pengaruh yang lebih besar dibandingkan dengan pH *buffer* sodium asetat. Sedangkan Gambar 2c menunjukkan bahwa interaksi antara suhu dan kecepatan pengadukan sangat signifikan terhadap persen dekstrosa yang didapatkan dengan persen dekstrosa maksimum sebesar 73,512%. Hasil yang serupa juga didapatkan oleh Gumienna dkk (2016) dengan persen dekstrosa sebesar 69,40% pada proses hidrolisis pati jagung secara enzimatis.



Gambar 2. Hubungan interaksi antar parameter operasi terhadap persen dekstrosa berdasarkan *three-dimensional response surface* (a) kecepatan pengadukan vs pH; (b) suhu vs pH; (c) kecepatan pengadukan vs suhu

Selain itu, enzim glukoamilase terimobilisasi dalam silika MCF 9.2T-3D digunakan berulang kali pada proses hidrolisis pati tapioka untuk mengetahui penurunan aktivitas enzim setelah digunakan secara berulang. Penurunan dekstrosa tersebut ditunjukkan oleh persen aktivitas enzim glukoamilase terimobilisasi yang dapat dilihat pada Gambar 3. Pada penggunaan kedua, aktivitas glukosamilase terimobilisasi menurun secara drastis dari 100% menjadi 68,832% dan setelah sepuluh kali digunakan aktivitas enzim hanya tersisa sebesar 21,523%. Hal ini dapat disebabkan oleh lepasnya enzim dari permukaan *support* saat proses pembilasan dan terjadinya denaturasi enzim karena telah berulang kali digunakan. Hasil yang serupa juga didapatkan oleh Demerikan dkk (2011) dimana aktivitas enzim terimobilisasi tersisa sebesar 38% setelah penggunaan ke-enam dan Ashly dkk (2011) dengan aktivitas enzim terimobilisasi tersisa sebesar 20% setelah sepuluh kali penggunaan. Berdasarkan Gambar 3 juga dapat dilihat bahwa enzim glukoamilase bebas hanya dapat digunakan satu kali pada proses hidrolisis. Pada saat penggunaan pertama, enzim glukoamilase bebas larut sempurna kedalam larutan pati tapioka. Sehingga enzim glukoamilase bebas tidak dapat dipisahkan untuk digunakan kembali.



Gambar 3. Pengaruh penggunaan berulang enzim glukoamilase terhadap aktivitas enzim. *Note:* ■=Glukoamilase Terimobilisasi, ▲=Glukoamilase Bebas

Kesimpulan

Optimasi proses hidrolisis pati tapioka menggunakan glukoamilase terimobilisasi pada silika MCF 9.2T-3D dilakukan berdasarkan *response surface methodology* (RSM) dengan desain Box-Behnken. Parameter operasi yang meliputi suhu, pH *buffer* sodium asetat dan kecepatan pengadukan dioptimasi dengan tujuan untuk mendapatkan persen dekstrosa maksimum. Berdasarkan hasil optimasi, diperoleh kondisi optimum proses hidrolisis pada suhu 70°C, pH *buffer* sodium asetat 0,1M 4,6 dan kecepatan pengadukan 140 rpm dengan persen dekstrosa sebesar 68,406%. *Analysis of variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa model kuadratik dengan R^2 sebesar 0,9978 merupakan model yang sesuai untuk proses hidrolisis yang dilakukan. Kesesuaian model telah dibuktikan melalui



percobaan, dimana persen dekstrosa yang di prediksi software tidak jauh berbeda dengan persen dekstrosa hasil percobaan.

Daftar Pustaka

- Arunachalam RM, Mannan MA, Spowage AC. 2004. Residual stress and surface roughness when facing age hardened inconel 718 with CBN and ceramic cutting tools. *International Journal of Machine Tools & Manufacture*; 44: 879–887.
- Ashly PC, Joseph MJ, Mohan PV. 2011. Activity of diastase α -amylase immobilized on polyanilines (PANIs). *Food Chemistry*; 127: 1808-1813.
- Azmi AS, Ngoh GC, Maizirwan M, Hasan M. 2012. Single-step bioconversion of unhydrolyzed cassava starch in the production of bioethanol and its value added products. *Bioethanol In Tech*; ISBN: 978-953-51-0008-9
- Bahri S, Mizan M, Hasan M. 2012. Karakterisasi enzim amilase dari kecambah biji jagung ketan (*zea mays ceratina*). *Journal Natural Science*; 1 (1): 132-143.
- Bryjak J. 2003. Glucoamylase, alfa-amylase, betha-amylase immobilization on acrylic carriers. *Biochemical Engineering Journal*; 16: 347-355.
- Demerikan E, Dincbas S, Sevinc N, Ertan F. 2011. Immobilization of b-amyloliquefaciens α -amylase and comparison of some of its enzymatic properties with the free form. *Romanian Biothecnological Letters*; 16 (6): 6690-6701.
- Eiadpum A, Limtong S, Phisalaphong M. 2012. High temperature ethanol fermentation by immobilized coculture of *kluveromyces marxianus* and *sacharomyces cerevisiae*. *Journal of Biosci Bioeng*; 114 (3): 325-329
- Gumienna M, Szwengiel A, Lasik M, Szambelan K, Majchrzycki D, Adamczyk J, Nowak J, Czarnecki Z. 2016. Effect of corn grain variety on the bioethanol production efficiency. *Journal of Fuel*; 164: 386–392.
- Jacques KA, Lyon TP, Kelsall DR. 2003. The alcohol textbook 4th edition. Nottingham University Press. Nottingham. NG11. 0AX. United Kingdom.
- Krajang M, Chamsart S. 2015. Raw cassava starch hydrolysis for single-step ethanol production using combination of raw starch hydrolysis and fermentation to pilot-scale. *Journal of Rmutto*: 20-32.
- Liguori R, Soccol C, De Souza Vandenberghe LP, Woiciechowski A, Faraco V. 2015. Second generation ethanol production from brewers' spent grain. *Journal of Energies*; 8: 2575–2586.
- Manohar M, Jomy J, Selvaraj T, Sivakumar D. 2013. Application of Box-Behnken design to optimize parameters for turning inconel 718 using coated carbide tools. *International Journal of Scientific and Engineering Research*; 4 (4): 620-642.
- Milosavic NB, Prodanovic RM, Jovanović SM, Vujčić ZM. 2007. Immobilization of glucoamylase via its carbohydrate moiety on macroporous poly (GMA-Co-EGDMA). *Enzyme and Microbial Technology*; 40: 1422-1426.
- Nadir N, Maizirwan M, Muhamed IAK, Rosli MY. 2010. Optimisation of hydrolysis conditions for ethanol production from surgom starch; 71 (3).
- Nisha S, Gobi N. 2012. A review on methods, application and properties of immobilized enzyme. *Department of Textile Technology, Anna University*; 1 (3): 148-155.
- Parshad R, Bhushan I, Qazi GN, Gupta VL. 2008. Immobilization of lipase by entrapment in ca-alginate beads. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*; 23: 552-562.
- Qiu P, Mingcan C, Kyounglim K, Beomguk P, Yonggyu S, Eunkyung K, Min J, Jeehyeong K. 2014. Application of Box-Behnken design with response surface methodology for modelling and optimizing ultrasonic oxidation of arsenite with H₂O₂. *Central European Journal of Chemistry*; 12 (2): 164-172.
- Ruiz MI, Sanchez CI, Torres RG, Molina DR. 2011. Enzymatic hydrolysis of cassava starch for production of bioethanol with a colombian wild yeast strain. *Journal of Braz. Chem. Soc*; 22 (12); 2337-2343.
- Sebayang AH, Hassan MH, Ong HC, Silitonga SA, Kusumo F, Mahlia TMI, Bahar AH. 2017. Optimization of reducing sugar production from manihot glaziovii starch using response surface methodology. *Journal of Energies*; 10 (35).
- Soyer A, Bayraktar E, Mehmetoglu U. 2010. Optimization of lipase-catalized enantioselective production of 1-phenyl 1-prophanol using response surface methodology. *Journal of Preparative Biochemistry and Biotechnology*; 40 (4): 389-404.
- Mussatto SI, Teixeira JA. 2010. Lignocellulose as raw material in fermentation processes. IBB- Institute for Biotechnology and Bioengineering, University of Minho, Campus de Gualtar, Braga, Portugal.





Lembar Tanya Jawab

Moderator : Firman Kurniawansyah (ITS Surabaya)
Notulen : Belinda Purboningrum (UPN "Veteran" Yogyakarta)

1. Penanya : Hargono (Teknik Kimia UNDIP Semarang)
Pertanyaan :
 - Bagaimana penjelasan mengenai interaksi antar faktor operasi, grafik terlampir?
 - Apakah pernah dilakukan percobaan mengenai interaksi antar faktor operasi yang menunjukkan grafik yang berbentuk mangkuk?Jawaban :
 - Grafik interaksi antar faktor operasi yang semakin membentuk parabola menunjukkan bahwa interaksi tersebut signifikan terhadap proses hidrolisis yang dilakukan.
 - Belum pernah dilakukan tetapi bentuk grafik itu sendiri tergantung interaksi antar faktor operasi yang divariasikan.

2. Penanya : Olivia Veronica (Teknik Kimia UNPAR Bandung)
Pertanyaan :
 - Apa beda *Box-behnken* dengan CCD?
 - Model apakah yang disarankan?Jawaban :
 - Jumlah rancangan percobaan.
 - Hasil optimasi yang dilakukan berupa model, R^2 , kondisi optimum dll. *Box-Behnken* lebih disarankan karena R^2 yang diperoleh 99,78%.

3. Penanya : Michael Gunawan (Teknik Kimia UNPAR Bandung)
Pertanyaan : Bagaimanakah bisa diketahui bahwa gula reduksi yang dihasilkan adalah glukosa?
Jawaban : Dengan uji spektrometer dan jenis gula reduksi yang terbesar dihasilkan pada proses hidrolisis adalah glukosa.

