

Potensi Fermentasi Etanol Isolat Yeast Tanah yang Diisolasi dari Kabupaten Jember, Jawa Timur

Indira Rizqita Ivanesthi¹, Sri Nurhatika¹, Anton Muhibuddin²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

²Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Jl. Veteran, Malang 65145 Indonesia

e-mail: nurhatika@bio.its.ac.id

Abstrak—Salah satu kelompok mikroorganisme tanah adalah yeast, yang dikenal memiliki rentang ekologi cukup luas dan mampu hidup pada daerah ekstrim. Berdasarkan sifat metabolismenya yeast dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu bersifat fermentatif dan oksidatif. Jenis fermentatif dapat melakukan fermentasi yaitu memecah gula menjadi etanol, asam laktat dan gas. Tujuan dari penelitian ini adalah menguji potensi isolat yeast tanah yang diisolasi dari tanah di Kabupaten Jember, Jawa Timur dalam fermentasi etanol dan mengetahui konsentrasi gula serta waktu yang terbaik untuk fermentasi etanol untuk masing-masing isolat. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah perhitungan tingkat produksi etanol yang dihasilkan dengan menggunakan kadar glukosa 10%, 15% dan 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 memiliki potensi untuk menghasilkan etanol. Kadar etanol tertinggi yang dihasilkan oleh *Candida* sp. 1 adalah 56% sedangkan pada *Candida* sp. 3 adalah 70%. Waktu yang optimum untuk proses fermentasi etanol yeast *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 adalah 24 jam.

Kata Kunci— etanol, fermentasi, gula, yeast.

I. PENDAHULUAN

YEAST adalah salah satu mikroorganisme yang termasuk dalam golongan fungi uniseluler. Reproduksi vegetatif pada yeast terutama dengan cara pertunasan. Sebagai sel tunggal, yeast tumbuh dan berkembang biak lebih cepat dibandingkan dengan mold yang tumbuh dengan membentuk filamen. Berdasarkan sifat metabolismenya yeast dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu: bersifat fermentatif dan oksidatif. Jenis fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol, yaitu memecah gula (glukosa) menjadi alkohol dan gas contohnya pada produk roti dan bioetanol. Sedangkan oksidatif (respirasi) dapat menghasilkan karbon dioksida dan air [1]. Beberapa yeast yang tergolong dalam yeast fermentatif antara lain *Saccharomyces*, *Candida*, *Brettanomyces* dan *Zygosaccharomyces*. Sedangkan yeast yang bersifat non fermentatif yaitu *Rhodotorula* [2].

Yeast telah lama digunakan untuk proses industri seperti pada pembuatan minuman beralkohol, fermentasi tape, pembuatan makanan ternak, kosmetik, dan antibiotik [3] [4]. Yeast di masa depan dapat dikembangkan sebagai renewable

resources, karena beberapa jenis yeast mampu memproduksi alkohol dari berbagai jenis karbohidrat yang berbeda. Berbagai penemuan tersebut akan memacu kegiatan eksplorasi khamir, terutama jenis-jenis khamir yang mempunyai potensi di bidang industri khususnya dalam produksi bioetanol [5].

Penelitian tentang yeast banyak dilakukan dalam bentuk eksplorasi dari berbagai ekosistem di Indonesia. Hal ini diyakini bahwa jumlah yeast di alam jauh lebih tinggi dibandingkan yeast yang telah diketahui selama [6]. Penelitian yang sudah dilakukan yaitu eksplorasi yeast dilakukan pada wilayah Kabupaten Jember, Jawa timur Beberapa isolat yeast yang didapatkan antara lain *Candida* sp. 1, *Candida* sp. 2, *Candida* sp. 3, *Debaryomyces* sp. dan *Kloeckera* sp. [7]. Kemampuan isolat tersebut untuk melakukan fermentasi alkohol belum diteliti lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi isolat yeast tanah yang diisolasi dari tanah di Kabupaten Jember, Jawa Timur dalam fermentasi etanol dan mengetahui konsentrasi gula serta waktu yang sesuai untuk fermentasi etanol untuk masing-masing isolat.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2015 sampai dengan Mei 2015 di laboratorium Botani, laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi dan laboratorium Kimia Mikroorganisme Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

B. Alat dan Bahan

Peralatan yang diperlukan dalam penelitian tugas akhir ini adalah tabung reaksi, cawan petri, enlemeyer, hot plate, pipet ukur, gelas ukur, beaker glass, jarum ose, autoklaf, timbangan analitik, magnetic stirrer, Laminar Air Flow (LAF),

Tabel 1.

Karakteristik Makroskopik Isolat *Yeast Candida* sp. 1 dan *Candida* sp.3

| Isolat | Bentuk | Elevasi | Marginal | Warna | Permukaan |
|----------------------|----------|---------|----------|-------------|--------------|
| <i>Candida</i> sp. 1 | Circular | Convex | Entire | Putih Susu | Smooth shiny |
| <i>Candida</i> sp. 3 | Circular | Raised | Undulate | White-Cream | Smooth |

Tabel 2.

Gula Reduksi dan Etanol Pada Jam ke 24 (*Fermentasi 24 Jam*)

| Nama Isolat | Konsentrasi Medium (%) | Gula Reduksi awal (%) | Gula Reduksi Akhir (%) | Jumlah Gula yang terpakai (%) | Kadar Etanol (%) |
|---------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|------------------|
| <i>Candida</i> sp.1 | 10 | 4.13 | 3.70 | 0.43 | 0 |
| | 15 | 4.96 | 3.13 | 1.56 | 2 |
| | 20 | 5.88 | 4.42 | 1.46 | 0 |
| <i>Candida</i> sp.3 | 10 | 4.13 | 3.55 | 0.68 | 0 |
| | 15 | 4.96 | 1.98 | 2.71 | 70 |
| | 20 | 5.88 | 4.08 | 1.80 | 0 |

Tabel 3.

Gula Reduksi dan Etanol Pada Jam ke 48 (*Fermentasi 48 Jam*)

| Nama Isolat | Konsentrasi Medium (%) | Gula Reduksi awal (%) | Gula Reduksi Akhir (%) | Jumlah Gula yang terpakai (%) | Kadar Etanol (%) |
|---------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|------------------|
| <i>Candida</i> sp.1 | 10 | 4.13 | 3.35 | 0.78 | 0.8 |
| | 15 | 4.96 | 4.02 | 0.92 | 56 |
| | 20 | 5.88 | 5.32 | 0.56 | 0 |
| <i>Candida</i> sp.3 | 10 | 4.13 | 3.51 | 0.62 | 0 |
| | 15 | 4.96 | 1.85 | 3.11 | 3.4 |
| | 20 | 5.88 | 5.82 | 0.06 | 0 |

Fermentasi 72 Jam

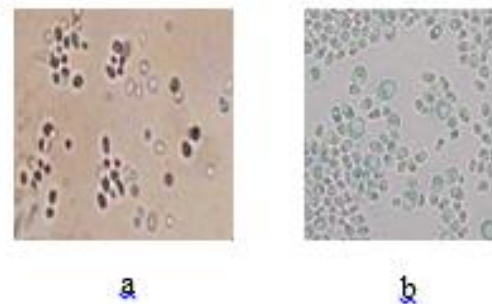
Tabel 4. Gula Reduksi dan Etanol Pada Jam ke 72

| Nama Isolat | Konsentrasi Medium (%) | Gula Reduksi awal (%) | Gula Reduksi Akhir (%) | Jumlah Gula yang terpakai (%) | Kadar Etanol (%) |
|---------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|------------------|
| <i>Candida</i> sp.1 | 10 | 4.13 | 3.74 | 0.39 | 0 |
| | 15 | 4.96 | 3.94 | 1.02 | 0 |
| | 20 | 5.88 | 4.55 | 1.33 | 0 |
| <i>Candida</i> sp.3 | 10 | 4.13 | 3.50 | 0.63 | 0 |
| | 15 | 4.96 | 3.73 | 1.23 | 0 |
| | 20 | 5.88 | 4.51 | 1.37 | 0 |

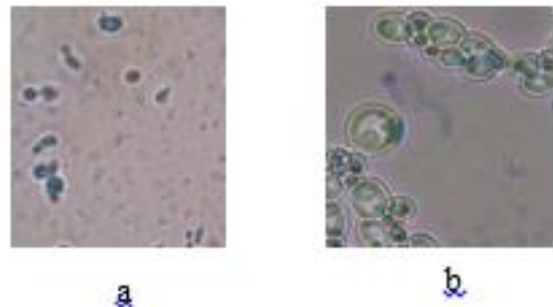
Tabel 5.

Gula Reduksi dan Etanol Pada Jam ke 96 (*Fermentasi 96 Jam*)

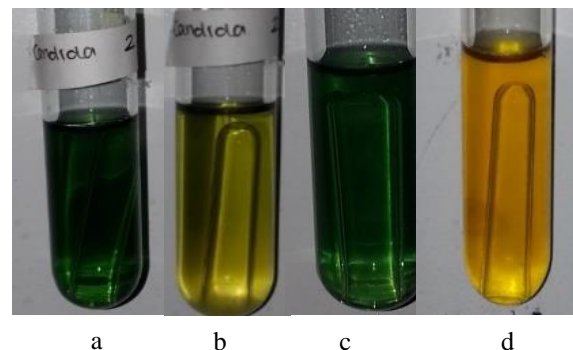
| Nama Isolat | Konsentrasi Medium (%) | Gula Reduksi awal (%) | Gula Reduksi Akhir (%) | Jumlah Gula yang terpakai (%) | Kadar Etanol (%) |
|---------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|------------------|
| <i>Candida</i> sp.1 | 10 | 4.13 | 3.61 | 0.52 | 0 |
| | 15 | 4.96 | 4.37 | 0.59 | 0 |
| | 20 | 5.88 | 4.95 | 0.93 | 0 |
| <i>Candida</i> sp.3 | 10 | 4.13 | 3.47 | 0.66 | 0 |
| | 15 | 4.96 | 3.98 | 0.98 | 0 |
| | 20 | 5.88 | 4.13 | 1.75 | 0 |



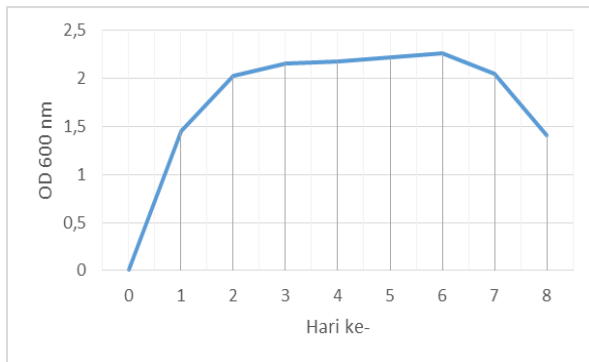
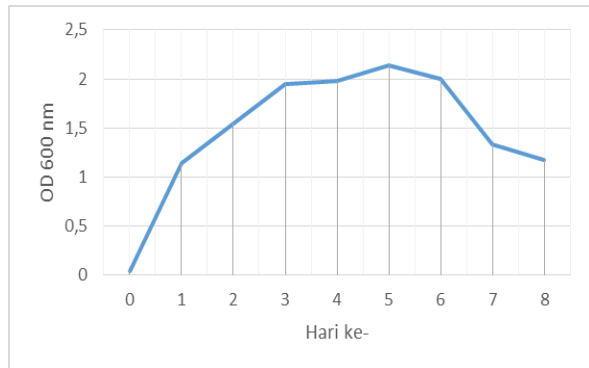
Gambar 1. Pengamatan Mikroskopik *Candida* sp. 1. (a) Dokumentasi pribadi (perbesaran 400x), (b) Literatur (perbesaran 1000x) [7].



Gambar 2. Pengamatan Mikroskopik *Candida* sp. 3. (a) Dokumentasi pribadi (perbesaran 400x), (b) Literatur (perbesaran 1000x) [7].



Gambar 3. Hasil Uji Fermentasi Glukosa (a) Medium Sebelum Fermentasi *Candida* sp. 1, (b) Medium Sesudah Fermentasi *Candida* sp. 1, (c) Medium Sebelum Fermentasi *Candida* sp. 3, dan (d) Medium Sesudah Fermentasi *Candida* sp. 3

Gambar 3. Kurva Pertumbuhan *Candida* sp. 1Gambar 4. Kurva Pertumbuhan *Candida* sp. 3

spektrofotometer GENESYS 10S UV Vis, bunsen, kuvet, mikroskop (Olympus Binokular CX22), gelas obyek, penutup gelas obyek, rotary shaker, tabung durham, rak tabung reaksi, rotary evaporator (EYELA N-1110S-WD), vortex dan piknometer.

Bahan yang digunakan antara lain Isolat *Candida* sp. 1, *Candida* sp. 2, *Candida* sp. 3, *Debaryomyces* sp. dan *Kloeckera* sp. koleksi Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , alkohol 70%, akuades, kloramfenikol, media yeast malt broth (YMB), media yeast malt extract agar (YMEA), Bromothymol blue, pepton water, glukosa dan laktofenol biru.

A. Cara Kerja

1) Subkultur Isolat Yeast

Isolat yeast yang diujikan dalam penelitian ini adalah isolat yeast koleksi Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Isolat yeast di subkultur pada medium YMEA (Yeast Malt Extract Agar). Medium YMEA steril dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak ± 5 mL. Tabung reaksi tersebut diletakkan pada posisi miring dan didinginkan sampai medium memadat, kemudian disimpan pada suhu ruang. Selanjutnya, isolat yeast diinokulasikan pada medium YMEA slant menggunakan jarum ose dan diinkubasi selama 4 hari pada suhu ruang. Keberhasilan subkultur ditandai dengan tumbuhnya isolat yeast pada medium YMEA.

2) Pengamatan Karakter Yeast

Pengamatan karakter makroskopis dilihat berdasarkan kenampakan koloni yang tumbuh pada medium YMEA yang

meliputi; warna koloni, bentuk tepi koloni, elevasi, permukaan koloni dan tekstur koloni.

Pengamatan karakter mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop dan pewarnaan laktofenol. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan cara membuat preparat biakan di atas kaca objek yang telah diwarnai dengan laktofenol, kemudian ditutup dengan cover glass dan ditetesi minyak imersi. Setelah itu dilihat karakter selnya pada mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x. Untuk pengamatan dengan perbesaran 400x tidak perlu ditambahkan minyak imersi.

3) Uji Potensi Fermentasi Glukosa

Uji fermentasi gula dilakukan dengan cara 1 ose isolat yeast yang telah berumur 24-48 jam diambil lalu diinokulasikan ke dalam media uji fermentasi yang mengandung glukosa 1% pada tabung reaksi. Sebelumnya media sudah diberi indikator bromothymol blue sebagai indikator terjadinya fermentasi dan diletakkan tabung Durham steril. Kemudian tabung dihomogenkan, dan ditambahkan kloramfenikol sebagai antibakteri dan pepton water sebagai sumber nitrogen. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 72 jam pada temperatur 25-28°C. Hasil positif tampak jika terjadi perubahan warna pada medium dan juga adanya gelembung gas pada tabung Durham. Warna media berubah dari biru menjadi kuning karena pembentukan asam dan gas yang dihasilkan.

B. Pembuatan Starter

Starter dibuat dengan cara mencampurkan sebanyak 3 g yeast extract, 3 g malt extract, 5 g pepton, 0,5 gram kloramfenikol, 1 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,4 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 2 gram KH_2PO_4 dan kemudian ditambah aquades hingga 1 liter. Campuran tersebut kemudian dipanaskan hingga mendidih dan larut sempurna. Setelah itu medium disterilkan dengan autoklaf 121°C, 1,5 atm selama 15 menit setelah itu didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Setelah itu medium dituangkan pada botol produksi masing-masing 72 mL. Kemudian ditambahkan 10% (w/v), yaitu 8 mL air fisiologis berisi isolat yang akan digunakan yang OD nya sudah mencapai 0.5. Kemudian botol di tutup dengan sumbat di wrap dan dilakukan inkubasi selama 2 hari (48 jam) pada rotary shaker sebelum digunakan untuk uji fermentasi.

1) Uji Fermentasi Substrat Glukosa

Medium fermentasi yang digunakan yaitu medium glukosa yang masing-masing terdiri atas konsentrasi 10%, 15%, 20%. Lalu ditambahkan sebanyak 3 g yeast extract, 3 g malt extract, 5 g pepton, 1 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,4 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 2 gram KH_2PO_4 dan kemudian ditambah aquades hingga 1 liter. Setelah itu medium disterilkan dengan autoklaf 121°C, 1,5 atm selama 15 menit setelah itu didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Kemudian medium dituang pada Erlenmeyer sebanyak 200 mL untuk dilakukan proses fermentasi. Uji fermentasi substrat glukosa dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 10% (w/v) isolat yeast yang telah berumur 48 jam kedalam medium yang sudah siap digunakan. Fermentasi dilakukan selama 96 jam menggunakan

botol yang berbeda dan setiap 24 jam dilakukan perhitungan kadar etanol yang dihasilkan dalam proses fermentasi. Dalam masa inkubasi sampel fermentasi di rotary shaker.

2) Pengukuran Kadar Gula Reduksi

Analisis kadar glukosa dilakukan dengan metode DNS (Dinitrosalicylic acid) yaitu sampel hasil fermentasi dipipet sebanyak 0,2 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih. Selanjutnya ditambahkan 1,8 mL akuades dan 2 mL reagen DNS (Lampiran). Tabung reaksi dipanaskan pada air mendidih selama 5 menit agar terjadi reaksi antara glukosa dalam sampel dengan DNS. Tabung didinginkan hingga mencapai suhu ruang, selanjutnya absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 540 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Nilai absorbansi di masukkan pada persamaan linier Kurva Standar Glukosa.

3) Pengukuran Kadar Etanol

Perhitungan kadar etanol dalam penelitian ini menggunakan alat piknometer dan rotary evaporator. Rotary evaporator berfungsi untuk mendapatkan larutan etanol dari medium fermentasi sedangkan piknometer berfungsi untuk mengukur kadar etanol setelah dilakukan evaporasi.

Analisis kadar etanol yaitu dengan penetapan berat jenis menggunakan metode piknometer. Piknometer diisi akuades dan ditutup. Piknometer dan akuades ditimbang, berat yang didapat adalah W_2 . Kemudian piknometer dikosongkan, akuades yang tersisa diabsorpsi dengan aseton. Tabung piknometer dikeringkan dengan oven. Piknometer yang telah kering ditimbang, berat yang didapatkan adalah W_1 . Berat akuades (W) dihitung dengan cara $W_2 - W_1$.

C. Analisis Data

Penelitian ini dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Data yang didapat merupakan data kuantitatif konsentrasi kadar etanol dengan menggunakan piknometer dan nilai konsentrasi sisa gula reduksi dengan menggunakan metode DNS (Dinitrosalicylic acid).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Isolat Yeast

Pengamatan karakteristik makroskopis dilakukan dengan melihat koloni yang ditumbuhkan pada media padat (YMEA) yang meliputi bentuk koloni, warna koloni, permukaan koloni, elevasi koloni, tepi koloni. Hasil pengujian karakter makroskopis ditampilkan pada Tabel 1.

Selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopis yeast dengan menggunakan pewarna lactofenol tryphan blue dan diamati dengan mikroskop perbesaran 400x. Metode pewarnaan ini merupakan metode khusus untuk pewarnaan mikroorganisme jenis fungi [8]. Isolat dinyatakan murni ketika bentuk sel sudah seragam. Pengamatan mikroskopis mencakup pengamatan morfologi sel, jenis budding, serta ada tidaknya pseudohifa atau hifa [6].

Hasil pengamatan mikroskopis pada isolat *Candida* sp. 1 menunjukkan sel berbentuk oval, sel tunggal, dan memiliki

multilateral budding (tunas berada pada ujung sel). Sedangkan pada *Candida* sp. 3 menunjukkan koloni sel berbentuk oval, sel tunggal dan memiliki multilateral budding.

B. Uji Potensi Fermentasi Glukosa

Hasil uji fermentasi glukosa menunjukkan hasil positif pada isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3, yang ditandai dengan adanya perubahan warna medium dari hijau menjadi kuning dan juga adanya gelembung gas pada tabung Durham. Warna media berubah dari hijau menjadi kuning karena pembentukan asam dan gas yang dihasilkan [9].

C. Kurva Pertumbuhan

Berdasarkan grafik dapat diketahui isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 mengalami 3 fase pertumbuhan. Pertama adalah fase lag sebagai awal pertumbuhan yeast secara eksponensial. Sel yeast mulai melakukan adaptasi dan mempersiapkan diri untuk melakukan pembelahan. Fase lag *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 terjadi dimulai dari hari ke-0 sampai hari kesatu. Pada *Candida* sp. 1 terlihat OD hari ke-0 adalah 0.015 dan meningkat pada hari kesatu menjadi 1.455 sedangkan pada *Candida* sp. 3 OD hari ke-0 adalah 0.037 dan meningkat pada hari kesatu menjadi 1.139. Beberapa parameter yang mempengaruhi waktu fase lag adalah jenis dan umur sel yeast, jumlah inokulum dan kondisi media tumbuh. Apabila sel yeast tumbuh di dalam medium yang kekurangan nutrisi, maka waktu fase lag akan berjalan lebih lama, karena sel harus menghasilkan enzim yang sesuai dengan jenis nutrien yang ada. Parameter lain yang mempengaruhi waktu fase lag adalah jumlah inokulum. Apabila sel dengan jumlah rendah ditumbuhkan dalam media yang volumenya tinggi, sel akan mengalami fase lag yang lama [10].

Kemudian isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 mengalami fase log. Fase log terjadi mulai hari kesatu sampai hari ketiga. Pada fase ini peningkatan jumlah sel sangat terjadi cepat diiringi dengan penggunaan nutrisi yang semakin banyak, sehingga fase ini adalah fase yang cocok untuk proses fermentasi. Selanjutnya sel yeast mengalami fase stasioner mulai hari ketiga sampai hari keenam. Populasi sel meningkat sedikit dan akan relatif stabil sampai fase mati. Pada fase ini proses fermentasi mulai berkurang dengan habisnya glukosa dan berlanjut ke proses respirasi. Pada fase stasioner, sel yeast akan mensekresikan metabolit sekunder untuk mempertahankan diri dari stres oksidatif akibat akumulasi produk metabolisme yang bersifat toksik [11]. Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut, isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 akan diinkubasi selama dua hari terlebih dahulu, sampai mencapai fase log, sebelum diinokulasikan pada medium produksi etanol.

Hasil gula reduksi awal dan akhir pada medium, jumlah gula yang dipakai oleh isolat dan kadar etanol yang dihasilkan oleh isolat selama 24 jam fermentasi. Pada konsentrasi medium 10%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.78% dan menghasilkan etanol sebesar 0.8% sedangkan pada isolat *Candida* sp.3, isolat menggunakan gula glukosa sebanyak 0.62% dan tidak menghasilkan etanol.

Kemudian pada konsentrasi medium 15%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.92% dan menghasilkan etanol sebesar 56% sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 3.11% dan menghasilkan etanol sebesar 3.4%. Lalu pada konsentrasi medium 20%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.56% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp.3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 0.06% dan tidak menghasilkan etanol. Konsentrasi glukosa akan menurun selama fermentasi, bertepatan dengan peningkatan produksi sel dan etanol. Hal ini disebabkan sel-sel mengkonsumsi glukosa dalam sistem untuk meningkatkan pertumbuhan sel dan produksi etanol [12]. Jumlah konsumsi gula oleh juga berhubungan dengan produksi etanol. Ketika yeast memproduksi etanol, maka gula yang di konsumsi akan lebih tinggi dari pada saat tidak memproduksi etanol.

Isolat *Candida* sp.1 dapat menghasilkan etanol pada konsentrasi 10% dengan menggunakan gula sebanyak 0.78%. 0.78% gula tersebut akan dikonversikan untuk kebutuhan respirasi sel dan akan dikonversikan menjadi etanol sebagai produk fermentasi. Sedangkan pada *Candida* sp. 3 dengan menggunakan gula sebanyak 0.62%, tidak mampu menghasilkan etanol pada medium 10%. Kedua isolat dimungkinkan memiliki waktu metabolisme glukosa yang berbeda.

Pada konsentrasi medium 20%, kedua isolat tidak mampu menghasilkan etanol. Konsentrasi gula yang umumnya dibuat dalam pembuatan etanol sekitar 14-20 persen. Jika konsentrasi gula terlalu tinggi akan menghambat aktivitas yeast [13]. Kemudian menurut penurunan kadar etanol pada konsentrasi glukosa berlebih terjadi sebagai efek inhibisi substrat dan produk. Konsentrasi substrat yang terlalu tinggi mengurangi jumlah oksigen terlarut [14]. Hal ini yang menyebabkan isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 tidak mampu menghasilkan etanol pada konsentrasi medium 20%.

Berdasarkan tabel tersebut diketahui hasil gula reduksi awal dan akhir pada medium, jumlah gula yang dipakai oleh isolat dan kadar etanol yang dihasilkan oleh isolat selama 48 jam fermentasi. Pada konsentrasi medium 10%, isolat *Candida* sp.1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.43% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp.3, isolat menggunakan gula glukosa sebanyak 0.68% dan tidak menghasilkan etanol. Kemudian pada konsentrasi medium 15%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 1.56% dan menghasilkan etanol sebesar 2% sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 2.71% dan menghasilkan etanol sebesar 70%. Lalu pada konsentrasi medium 20%, isolat *Candida* sp.1 menggunakan gula glukosa sebanyak 1.46% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 1.80 % dan tidak menghasilkan etanol.

Pada perlakuan fermentasi selama 48 jam, isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 hanya mampu menghasilkan etanol pada

konsentrasi medium 15%. Pada konsentrasi medium 10%, glukosa yang di konsumsi hanya sedikit yaitu 0.43% pada *Candida* sp. 1 dan 0.68% pada *Candida* sp. 3. Hal ini disebabkan oleh, pada jam 48, selain etanol, yeast ini juga memproduksi metabolit sekunder seperti asam asetat. Pada tahap pertama, glukosa diubah menjadi etanol dan asam asetat. Setelah itu, sebagian besar etanol juga dioksidasi menjadi asam asetat. Asam ini terus menumpuk setelah glukosa habis dan oksidasi etanol berlangsung. Setelah penipisan glukosa, etanol dioksidasi menjadi asam asetat, dan akhirnya asam asetat dikonsumsi dan dioksidasi menjadi CO₂ dan air [2].

Berdasarkan tabel tersebut diketahui hasil gula reduksi awal dan akhir pada medium, jumlah gula yang dipakai oleh isolat dan kadar etanol yang dihasilkan oleh isolat selama 72 jam fermentasi. Pada konsentrasi medium 10%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.39% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat menggunakan gula glukosa sebanyak 0.63% dan tidak menghasilkan etanol. Kemudian pada konsentrasi medium 15%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 1.02% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 1.23% dan tidak menghasilkan etanol. Lalu pada konsentrasi medium 20%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 1.33% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 1.33% dan tidak menghasilkan etanol.

Pada medium dengan perlakuan fermentasi selama 72 jam, kedua isolat tidak menghasilkan etanol sama sekali. Diperkirakan kadar oksigen pada medium mungkin sudah habis sehingga isolat tidak dapat melakukan proses respirasi dan fermentasi. Yeast fermentatif memiliki respon yang berbeda terhadap kondisi lingkungan sehubungan dengan fermentasi alkohol. Banyak spesies yeast hanya mampu melakukan fermentasi alkohol di bawah kondisi ada oksigen namun dalam jumlah sedikit dan tidak secara anaerobik. Oksigen sangat dibutuhkan untuk fermentasi glukosa dalam sel yeast, karena dengan tidak adanya oksigen mereka tidak akan tumbuh pada glukosa (meskipun oksigen tidak diperlukan untuk konversi glukosa menjadi etanol) [15].

Berdasarkan tabel tersebut diketahui hasil gula reduksi awal dan akhir pada medium, jumlah gula yang dipakai oleh isolat dan kadar etanol yang dihasilkan oleh isolat selama 96 jam fermentasi. Pada konsentrasi medium 10%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.52% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat menggunakan gula glukosa sebanyak 0.66% dan tidak menghasilkan etanol. Kemudian pada konsentrasi medium 15%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.59% dan tidak menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 0.98% dan tidak menghasilkan etanol. Lalu pada konsentrasi medium 20%, isolat *Candida* sp. 1 menggunakan gula glukosa sebanyak 0.93% dan tidak

menghasilkan etanol sedangkan pada isolat *Candida* sp. 3, isolat dapat menggunakan gula glukosa sebanyak 1.75% dan tidak menghasilkan etanol.

Pada medium dengan perlakuan fermentasi selama 96 jam, kedua isolat tidak menghasilkan etanol sama sekali. Hal yang sama pada perlakuan 72 jam fermentasi terjadi. Isolat *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 tidak menghasilkan etanol pada perlakuan fermentasi 96 jam di semua medium konsentrasi. Kadar oksigen pada medium sudah habis sehingga isolat tidak dapat melakukan proses respirasi dan fermentasi. Oksigen diperlukan untuk pertumbuhan yeast sebagai sebuah blok bangunan untuk biosintesis lemak tak jenuh dan lipid yang diperlukan dalam mitokondria dan membran plasma. Konsekuensi dari kekurangan oksigen adalah membatasi pertumbuhan sel yeast, mengurangi viabilitas sel dan fermentasi lambat dan tidak lengkap [16].

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah yeast *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 memiliki potensi untuk menghasilkan etanol. Konsentrasi medium yang sesuai untuk proses fermentasi yeast *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 dalam penelitian ini adalah pada konsentrasi medium glukosa 15%. Serta waktu yang optimum untuk proses fermentasi etanol yeast *Candida* sp. 1 dan *Candida* sp. 3 adalah 24 jam.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Ir. Sri Nurhatika M.P dan Dr. Anton Muhibuddin, M.P selaku dosen pembimbing yang telah rela mencurahkan tenaga, pikiran, dan waktunya untuk penulis, Nur Hidayatul Alami, S.Si, M.Si selaku ketua sidang dan dosen penguji I yang telah memberikan waktu luangnya untuk memberikan masukan dan saran dan Kristanti Indah Purwani, S.Si, M.Si selaku dosen penguji II yang memberikan waktu luangnya untuk masukan dan saran. Ucapan terimakasih kepada teman-teman Biologi ITS angkatan 2012, 2013, 2014 dan 2015 yang membantu memberikan motivasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Fardiaz, S. "Mikrobiologi Pangan I". Gramedia Pustaka Utama. Jakarta (1992).
- [2] Van Dijken, J.P, Scheffers, W. A. 1986. "Redox Balances in the Metabolism of Sugars by Yeasts". FEMS microbiology letters 32(3-4) 199-224.
- [3] Tanaka, T., M.T. Suzuki, N. Takashi, W. Daengsubha, M. Chaowsangket, P. Suyanandana, M. Watanabe, K. Ohno, T. Murayama, H. Iino, and M. Kozaki. "Amylolytic Yeasts of Indonesian Koji-cake; Ragi". Tokyo: Report in graduation work at Showa Women's University (1990)
- [4] Ardhana, M.M. and G.H. Fleet. "The Microbial Ecology of Tape Ketan Fermentation". International Journal of Food Microbiology 9: 157-165 (1989).
- [5] Lansane, B.K., G. Vijayalakshi, M.M. Krishnaiah. 1997. "Yeast and energy; The production of fuel-grade ethanol. In: Spencer, J.F.T. and D.M. Spencer. (ed.). Yeasts in Natural and Artificial Habitats". Springer Verlag. Berlin (1997).
- [6] Kurtzman, C.P. and W.F. Jack. "The Yeast A Taxonomic Study. Elsevier". NewYork (1998).
- [7] Muhibuddin, A dan Sastrahidayat, I.R. "Soil Drive Nutrients Creation through Alternate Host System Propagation of VAM to Support Selective Exploration of Microbial Fermentation". Universitas Brawijaya. Malang (2015)
- [8] Harley, J.P., L. and Prescott, M. "Laboratory Exercises in Microbiology Fifth Edition". McGraw-Hill Companies. New York (2002)
- [9] Wickerham. "Phylogeni and Biochemistry of the Genus *Hansenula*". Research Laboratory 26: 382-397 (1951).
- [10] Mahreni dan Sri Suhenry. "Kinetika Pertumbuhan Sel *Saccharomyces cerevisiae* Dalam Media Tepung Kulit Pisang". Seminar Rekayasa Kimia dan Proses, ISSN: 1411-4216 (2011).
- [11] Lisnawati Y. "Aktivitas antioksidan Vitamin C dan teh hijau berdasarkan resistensi etanol pada sel khamir *Candida* sp." Skripsi. FMIPA IPB.Bogor (2004).
- [12] Cheng, N.H, Masitah, H., Andri, C.K., Chew, F.L. and Margaret, T. "Production of Ethanol by Fed-Batch Fermentation". J. Sci. & Technol. 17 (2): 399 – 408 (2009).
- [13] Judoamidjojo, M. "Teknologi Fermentasi". Rajawali Press: Jakarta (1990)
- [14] Elevri, P.A dan Putra, S. R. 2006. "Produksi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang Diamobilisasi dengan Agar Batang". Akta Kimindo, Vol. 1, No. 2, hal: 105-114 (2006)
- [15] Van Dijken, J.P, Ruud A. W. and Jack T.P. "Kinetics of Growth and Sugar Consumption in Yeast". Antonie van Leeuwenhoek 63: 343-352 (1993).
- [16] Arifa, T., Madiha, A., and Tasnim, F. "EFFECT OF CULTURAL CONDITIONS ON ETHANOL PRODUCTION BY LOCALLY ISOLATED *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* BIO-07". J. App Pharm 3(2): 72-78 (2010).