

Uji Potensi Fermentasi Etanol *Yeast* Tanah yang Diisolasi dari Metode Budidaya SDN di Daerah Batu, Jawa Timur

Dwi Yanuar Rakhma Sari¹, Triono Bagus Saputro¹ dan 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 (UB). Jl. Veteran, Malang 65145 Indonesia

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

Abstrak—*Yeast* merupakan salah satu mikroorganisme tanah yang banyak ditemukan di daerah rhizosfer. Salah satu kemampuan *yeast* adalah fermentasi. Budidaya SDN merupakan metode budidaya tanaman yang bertujuan memperbaiki area rhizosfer sehingga nutrisi tersimpan dengan baik. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi fermentasi etanol dan tingkat kadar produksi etanol pada isolat genus *yeast Candida* (1), *Candida* (2), *Lindnera*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis* dengan menggunakan konsentrasi glukosa yang berbeda. Metode utama penelitian ini meliputi subkultur *yeast* tanah, uji fermentasi gula, uji fermentasi substrat glukosa, pengukuran kadar gula reduksi dan pengukuran kadar etanol. Fermentasi substrat glukosa dilakukan menggunakan berbagai konsentrasi yaitu 10%, 20% dan 30% dengan lama fermentasi 24 jam. Isolat yang mampu tumbuh pada subkultur medium YMEA adalah *yeast Saccharomyces* dan *Lindnera*. Hasil uji fermentasi menunjukkan bahwa isolat *yeast Lindnera* dan *Saccharomyces* berpotensi menghasilkan etanol dengan kadar etanol tertinggi pada konsentrasi substrat glukosa 30 % sebesar 60,7% pada isolat *Lindnera* dan 69,5% pada isolat *Saccharomyces*.

Kata Kunci— Etanol, fermentasi, *Lindnera*, *Saccharomyces*, *yeast*.

I. PENDAHULUAN

TANAH merupakan salah satu ekosistem yang dapat menunjang kehidupan mikroba dengan baik, karena memiliki senyawa organik dan mineral. Banyak faktor yang mempengaruhi kehidupan mikroba didalam lingkungan tanah seperti faktor abiotik (yang meliputi sifat fisik dan kimia tanah) dan biotik (adanya mikrobia lain dan tanaman tingkat tinggi) yang ikut berperan dalam menentukan tingkat pertumbuhan dan aktifitas mikroba tersebut. Struktur tanah, jenis tanah, aerasi tanah, ketersediaan air dan suhu tanah merupakan sifat-sifat fisik yang berperan dalam menentukan kelangsungan proses fisiologi mikroba [1]. Tanah di daerah Kota Batu berupa tanah mekanis yang banyak mengandung mineral yang berasal dari ledakan gunung berapi, sifat tanah semacam ini mempunyai tingkat kesuburan yang tinggi sehingga sebagian lahan tanah di daerah tersebut digunakan untuk pertanian dan agrowisata [2]. Salah satu area tanah yang memiliki populasi mikroba dalam jumlah besar yaitu dibagian rhizosfer. Rhizosfer merupakan daerah yang ideal untuk pertumbuhan mikroorganisme tanah yang umumnya didominasi oleh bakteri, aktinomicetes, dan fungi [3].

Rhizosfer kaya akan eksudat yang dikeluarkan oleh tanaman melalui proses sekresi akar. Kandungan eksudat antara lain karbohidrat, asam amino, asam organik, enzim, dan senyawa-senyawa lain. Kandungan eksudat inilah yang dapat dimanfaatkan oleh mikroba tanah [4].

Salah satu mikroorganisme yang dapat ditemukan di area rhizosfer adalah *yeast*. *Yeast* memanfaatkan eksudat akar melalui proses dekomposisi [5]. Mikroorganisme tanah akan berkumpul di dekat perakaran tanaman (rhizosfer) yang menghasilkan eksudat akar dan serpihan tudung akar sebagai sumber makanan mikroba tanah [6]. Budidaya SDN (*Soil Drive Nutrient*) merupakan suatu budidaya tanaman yang menggunakan metode *Vesicular Arbuscular Mycorrhizal* (VAM) simbiosis mikoriza dari tiga akar tanaman yang berbeda. Penggunaan metode ini bertujuan untuk memperbaiki daerah sekitar akar (rhizosfer) sehingga nutrisi akan disimpan dan tersedia dengan baik pada area tersebut. Ketika nutrisi tersedia dalam jumlah banyak, maka populasi *yeast* yang didapatkan akan semakin meningkat dan beragam [7].

Yeast dapat dibedakan atas dua kelompok berdasarkan sifat metabolismenya yaitu bersifat fermentatif dan oksidatif. Jenis fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol yaitu memecah gula (glukosa) menjadi alkohol dan gas [8]. *Yeast* merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang banyak diteliti berkaitan dengan kemampuannya dalam memecah gula menjadi etanol sehingga beberapa *yeast* digunakan sebagai agen fermentasi etanol.

Berdasarkan kemampuan *yeast* dalam fermentasi maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi fermentasi etanol dan tingkat kadar produksi etanol pada isolat genus *yeast Candida* (1), *Candida* (2), *Lindnera*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis* dengan menggunakan konsentrasi glukosa yang berbeda.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga Mei 2016 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS).

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 strirer*, Laminar Air Flow (LAF), 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* (1), *Candida* (2), *Lindnera*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis* 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.

C. 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 2-4 hari pada suhu ruang. Keberhasilan subkultur ditandai dengan tumbuhnya isolat *yeast* pada medium YMEA.

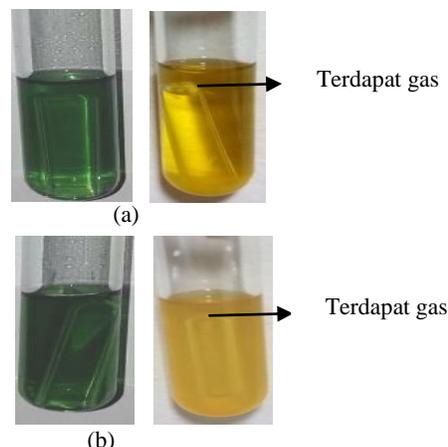
2) Uji Karakteristik Isolat Yeast

Pengamatan karakter makroskopis dilihat berdasarkan kenampakan koloni yang tumbuh pada media padat (*Yeast Malt Ekstrak Agar*), meliputi: tekstur koloni, warna koloni, tepi atau margin koloni, elevasi, dan permukaan koloni.

Pengamatan karakter mikroskopis dilakukan dengan melihat karakteristik reproduksi generatif dan vegetatifnya. Reproduksi generatif dapat diamati dari ada atau tidaknya askospora dan basidiospora. Sementara reproduksi vegetatif dapat diamati dari: *budding* dan pembentukan spora aseksual. Terkait tipe *budding*, beberapa tipe yang sering ditemukan pada *yeast*, antara lain dengan tipe: multipolar, bipolar, unipolar dan fusi. Sedangkan karakter mikroskopis lainnya seperti, bentuk sel (bulat, oval, silinder, ovoid, sperikal, spheroid). 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 400 \times .

3) Uji Potensi Fermentasi Gula

Uji fermentasi gula dilakukan dengan cara 1 ose isolat *yeast* dari medium padat 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. Kemudian tabung dihomogenkan, dan ditambahkan kloramfenikol sebagai



Gambar 1. Uji fermentasi gula dengan indikator *bromothymol blue*. (a) isolat *Saccharomyces*; (b) isolat *Lindnera* (Sumber: dokumentasi pribadi, 2016). Keterangan: medium yang berwarna hijau sebelum terjadi fermentasi, medium berwarna kuning setelah terjadi fermentasi.

antibakteri dan pepton water sebagai sumber nitrogen. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 72 jam pada temperatur 25-28 $^{\circ}\text{C}$. Hasil positif tampak jika terjadi perubahan warna pada medium dan juga adanya gelembung gas pada tabung Durham. Warna medium berubah dari biru menjadi kuning karena formasi asam dan gas yang dihasilkan [9].

4) Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Diambil 1 ose isolat yeast kemudian disuspensikan kedalam pada 100 mL air fisiologis steril 0,85% (NaCl dan akuades), dihitung nilai OD nya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm hingga mencapai nilai OD = 0,5 [10]. Selanjutnya kultur diambil 20 ml dan ditambahkan ke medium YMB sebanyak 180 ml kemudian diinkubasi dalam *rotary shaker* dengan kecepatan 130 rpm pada suhu ruang. Setiap 24 jam dihitung OD kultur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang 600nm selama 8 hari. Data OD yang didapatkan kemudian dibuat kurva pertumbuhannya sehingga umur starter dapat ditemukan [11].

5) Uji Fermentasi Substrat Glukosa

Uji fermentasi substrat glukosa dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 10% (w/v) isolat starter yang telah diinkubasi selama 2 hari kedalam medium uji fermentasi substrat glukosa yang masing-masing terdiri atas konsentrasi 10%, 20%, 30%. Fermentasi dilakukan selama 24 jam di *rotary shaker* (130 rpm) dengan suhu ruang.

6) Pengukuran Kadar Gula Reduksi

Larutan Asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dibuat dengan menimbang 1 g NaOH, dilarutkan dengan 60 ml akuades, ditambah 18,2 g Na-K Tartrat, 1 g asam 3,5-dinitrosalisilat (ditambahkan perlahan lahan sambil diaduk hingga larut sempurna), kemudian ditambah 0,2 g fenol untuk menstabilkan warna dan 0,05 g Na_2SO_3 . Lalu dipindahkan kedalam labu ukur, kemudian diencerkan dengan akuades hingga mencapai 100 mL, kemudian kocok hingga homogen [12].

Analisis kadar glukosa dilakukan dengan metode DNS (*Dinitrosalicylic acid*) yaitu sampel hasil hidrolisis enzimatis dalam keadaan jernih dipipet sebanyak 0,2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih. Selanjutnya ditambahkan 1,8

Tabel 1.

Karakterisasi Makroskopik Isolat <i>Yeast Saccharomyces</i> dan <i>Lindnera</i>					
Kode isolat	Bentuk	Elevasi	Margin	Warna	Permukaan
I1	Circular	Convex	Entire	Cream	Smooth shiny
I2	Circular	Convex	Entire	Cream	Smooth shiny

Keterangan: kode I1 isolat *yeast Saccharomyces*, kode I2 isolat *yeast Lindnera*.

Tabel 2.

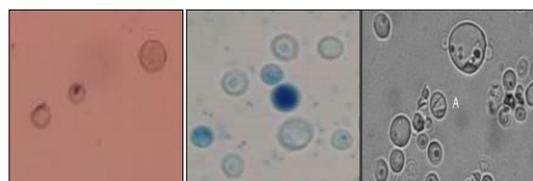
Konsentrasi Gula Reduksi Yang Digunakan Oleh <i>Yeast Saccharomyces</i> dan <i>Lindnera</i>				
Kode isolate	Konsentrasi gula (%)	Konsentrasi gula sisa (%)	Konsentrasi konsumsi gula (%)	Kadar etanol (%)
I1	10	1,24	8,76	29,6
	20	3,28	16,72	16,8
	30	0,80	29,20	69,5
I2	10	4,12	5,88	0
	20	3,41	16,59	12,3
	30	0,81	29,19	60,7

Keterangan: Kode I1 isolat *yeast Saccharomyces*, kode I2 isolat *yeast Lindnera*.



(a) (b) (c)

Gambar 2. Pengamatan mikroskopik isolat *Saccharomyces*, (a) dokumentasi pribadi, 2016; (b) Muhibuddin, 2015; Kurtzman dan Fell, 1998.



(a) (b) (c)

Gambar 3. Pengamatan mikroskopik isolat *Lindnera*, (a) dokumentasi pribadi, 2016; (b) Muhibuddin, 2015; (c) Mestre *et al.*, 2011.

mL akuades dan 2 mL reagen DNS. 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 [13].

1) Pengukuran Kadar Etanol

Analisis kadar etanol dapat dengan cara penetapan berat jenis menggunakan metode piknometer. Etanol hasil fermentasi dipisahkan dengan destilasi uap menggunakan rotary vakum evaporator kemudian etanol hasil sulingan ini ditentukan beratnya pada temperatur ruang dan dibandingkan dengan berat akuades yang ditentukan dengan menggunakan piknometer. Dari hasil perbandingan berat etanol dengan berat akuades akan diperoleh berat jenis destilat.

$$\text{Berat jenis etanol} = \frac{\text{Berat etanol dengan piknometer}}{\text{Berat aquades dengan piknometer}}$$

Kadar etanol diperoleh dari berat jenis etanol yang didapatkan yang selanjutnya ditentukan dengan menggunakan tabel AOAC (*Analysis of Association of Official Analytical Chemists*) [14].

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Karakterisasi Yeast

Uji karakterisasi *yeast* terdiri atas makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan hasil subkultur pada medium baru hanya dua isolat yang tumbuh membentuk koloni yaitu isolat *yeast Lindnera* dan *Saccharomyces*. 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.

Pengamatan mikroskopis *yeast* dilakukan dengan pewarnaan *lactofenol tryphan blue* dan diamati dengan mikroskop pembesaran 400 \times . Metode pewarnaan ini merupakan metode khusus untuk pewarnaan mikroorganisme jenis fungi [15].

Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa genus *Saccharomyces* memiliki ciri pertunasan multilateral dan bentuk sel oval. Genus *Lindnera* memiliki bentuk sel bulat. Genus *Lindnera* memiliki bentuk bulat hingga oval dan membentuk multilateral budding dan genus *Saccharomyces* memiliki ciri sel berbentuk bulat, oval dan multilateral budding [16]-[17].

Berdasarkan hasil uji konfirmasi karakter *yeast* yang dilakukan menunjukkan ciri-ciri yang sama dengan isolat *yeast* koleksi Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.

B. Hasil Uji Potensi Fermentasi Gula

Uji fermentasi gula dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 1 ose isolat yang telah berumur 48 - 78 jam ke dalam medium steril mengandung glukosa dan ditambahkan *bromthymol blue* (sebagai indikator). Media fermentasi harus mengandung senyawa yang dapat dioksidasi dan difermentasikan oleh *yeast*. Reaksi dalam fermentasi glukosa ($C_6H_{12}O_6$), yang merupakan gula paling sederhana melalui fermentasi akan menghasilkan etanol (C_2H_5OH). Persamaan reaksi kimia pada fermentasi glukosa yaitu (1).



Hasil positif menunjukkan terjadinya perubahan warna dari hijau menjadi kuning dan munculnya gas. Medium yang mengalami fermentasi gula akan berubah menjadi asam, maka pH akan turun dan akhirnya indikator BTB ini akan berubah warna menjadi kuning. Pada pH 7,5 keatas indikator BTB akan berwarna biru, sedangkan pada pH netral akan berwarna hijau. Indikator BTB dalam larutan asam berwarna kuning [18].

C. Kurva Pertumbuhan Isolat Yeast

Pembuatan kurva pertumbuhan isolat diperlukan untuk menentukan umur starter terbaik yang diperlukan untuk produksi etanol. Fase pertumbuhan sel dapat dibagi menjadi

beberapa tahap yaitu: fase lag, fase log (percepatan pertumbuhan), fase stasioner (kecepatan pertumbuhan tetap) dan fase kematian (pertumbuhan semakin lambat dan sebagian sel mati) [19]. Fase pertumbuhan pada isolat *yeast Lindnera* dan *Saccharomyces* dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5.

Pada grafik kurva pertumbuhan baik isolat *yeast Lindnera* dan *Saccharomyces* tidak tampak adanya fase lag atau fase adaptasi. Tidak adanya fase adaptasi (*lag phase*) pada kedua kurva pertumbuhan dapat disebabkan karena perhitungan nilai absorbansi pada sampel starter dilakukan pada tiap 24 jam sekali sehingga fase adaptasi tidak tampak pada kurva pertumbuhan atau terlewat.

Fase eksponensial pada isolat *yeast Lindnera* dan *yeast Saccharomyces* terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-72. Pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan. Sel *yeast* membelah tiap 90 menit sekali. Pada fase eksponensial, sel melakukan konsumsi nutrisi dalam medium fermentasi dan proses fisiologis lainnya. Etanol merupakan salah satu produk senyawa yang dihasilkan pada fase eksponensial [20]. Berdasarkan pada kurva pertumbuhan pada Gambar 4 dan Gambar 5 dapat diketahui umur kultur starter yang digunakan untuk produksi etanol adalah 36 jam setelah inokulasi. Penentuan umur starter didapatkan pada pertengahan fase eksponensial.

D. Potensi Fermentasi Etanol

1) Hasil fermentasi etanol yeast pada jam ke 24

Pada gambar 6 menunjukkan kadar etanol yang dihasilkan oleh *yeast Saccharomyces* dan *Lindnera* pada masa inkubasi 24 jam dengan konsentrasi glukosa 10%, 20% dan 30%. Kadar etanol yang dihasilkan oleh *yeast Saccharomyces* pada konsentrasi glukosa 10% sebesar 29,6%, konsentrasi substrat glukosa 20% sebesar 16,8% dan pada konsentrasi substrat glukosa 30% sebesar 69,5%. Pada konsentrasi substrat glukosa 10% *yeast Lindnera* tidak mengkonversi gula menjadi etanol sehingga kadar etanol 0% sedangkan kadar etanol pada konsentrasi substrat glukosa 20% sebesar 12,3% dan konsentrasi substrat glukosa 30% sebesar 60,7%. Kadar etanol tertinggi pada kedua isolat *yeast* terjadi pada konsentrasi substrat glukosa 30%.

Kadar etanol isolat *yeast Saccharomyces* pada konsentrasi substrat glukosa 20% lebih rendah dibanding dengan kadar etanol pada konsentrasi substrat 10%. Hal tersebut dapat disebabkan karena faktor fisik dan kimia yang mempengaruhi fisiologis inokulum sehingga berpengaruh pula pada hasil fermentasi. Pada penelitian ini dimungkinkan faktor suhu dan proses aerasi yang tidak sempurna yang mempengaruhi hasil fermentasi. Suhu yang digunakan pada proses fermentasi adalah suhu ruang. Suhu perlu dikontrol karena sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi [21]. Suhu yang terlalu tinggi ataupun rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan *yeast* dalam proses fermentasi [22]. Sedangkan proses aerasi bertujuan untuk memenuhi kebutuhan oksigen bagi *yeast*. Oksigen tetap dibutuhkan dalam jumlah sedikit. Oksigen dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dalam memproduksi ATP selama proses fermentasi [23]. Sebaliknya jika oksigen terlalu banyak maka

yeast akan melakukan respirasi dengan menghasilkan air dan CO₂.

Kadar etanol yang dihasilkan oleh *yeast* mengalami kenaikan dari konsentrasi substrat 10% sampai konsentrasi 30%. Hal tersebut didukung pendapat [24], yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat atau gula reduksi yang dapat dipecah oleh sel khamir menjadi etanol maka semakin tinggi pula konsentrasi etanol yang dihasilkan. Pada awal fermentasi *yeast* mampu mengkonsumsi glukosa dalam jumlah tinggi. Selama 24 jam fermentasi, kadar oksigen pada botol masih mencukupi untuk pertumbuhan sel *yeast* dan untuk melakukan fermentasi sehingga kedua isolat mampu menghasilkan etanol.

2) Hubungan kadar gula reduksi dengan kadar etanol

Pada tabel 2 diatas dapat diketahui secara umum terjadi penurunan kadar gula reduksi selama proses fermentasi. Proses fermentasi yang menghasilkan etanol mengakibatkan gula reduksi menurun secara signifikan. Kemampuan *yeast* dalam memproduksi etanol tinggi ditandai dengan semakin besar konsumsi gula sehingga terjadi penurunan konsentrasi gula sisa. Makin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan oleh *yeast* maka makin tinggi pula konsentrasi etanol yang dapat dihasilkan dan sebaliknya makin sedikit gula reduksi yang dimanfaatkan oleh *yeast* maka makin rendah pula konsentrasi etanol yang dihasilkan. Tetapi selama proses fermentasi tidak semua gula dikonversi menjadi etanol. Terlihat pada konsentrasi substrat glukosa 10%, *yeast Lindnera* tidak menghasilkan etanol tetapi kadar gula reduksi menurun.

Penurunan gula reduksi sisa tidak hanya diubah oleh *yeast* menjadi etanol tetapi juga dimanfaatkan oleh *yeast* untuk pertumbuhan sel sebagai sumber karbon. Tidak semua gula dimanfaatkan oleh mikroba untuk pembuatan etanol akan tetapi ada sebagian gula yang digunakan untuk metabolisme intraseluler seperti sintesis enzim, DNA, dan sebagainya [25]. Jumlah gula yang dibutuhkan untuk metabolisme *yeast* berbeda-beda tiap strain. Pada konsentrasi substrat yang rendah, *yeast* akan kelaparan dan produktivitas menurun [26]. Diduga pada Konsentrasi substrat glukosa 10% *yeast Lindnera* tidak menghasilkan etanol karena glukosa hanya mampu untuk memenuhi kebutuhan intraseluler. Pertumbuhan dan konsumsi gula oleh *yeast* tergantung pada spesies *yeast*, konsentrasi gula, ketersediaan oksigen dan parameter lingkungan lainnya.

Sejauh ini dari semua *yeast*, yang telah diidentifikasi, dapat menggunakan glukosa sebagai sumber karbon tunggal. Jalur metabolisme karbon umumnya sama antara spesies *yeast*, yang berbeda. Dalam fermentasi glukosa didegradasi menjadi etanol dan CO₂ melalui suatu jalur metabolisme yang disebut glikolisis. Jalur glikolisis disebut juga sebagai jalur Embden–Meyerhof–Parnas [27].

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil subkultur pada medium YMEA hanya dua isolat yang mampu tumbuh membentuk koloni yaitu isolat *yeast Saccharomyces* dan *Lindnera*. *Yeast* dari genus *Saccharomyces* memiliki potensi fermentasi etanol pada konsentrasi substrat glukosa 10%, 20% dan 30%. Pada *yeast Lindnera* memiliki potensi fermentasi pada konsentrasi substrat

glukosa, 20% dan 30%. Sedangkan pada konsentrasi substrat glukosa 10% *yeast Lindnera* tidak mampu menghasilkan etanol. Kadar etanol *yeast Saccharomyces* pada konsentrasi substrat glukosa 10% sebesar 29,6%, konsentrasi substrat glukosa 20% sebesar 16,8% dan pada konsentrasi 30% sebesar 69,5%. Kadar etanol yang dihasilkan oleh *yeast Lindnera* pada konsentrasi substrat glukosa 20% sebesar 12,3% dan pada konsentrasi substrat glukosa 30% sebesar 60,7%.

Penelitian selanjutnya disarankan dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan uji potensi fermentasi etanol dengan mengontrol suhu pada proses fermentasi, menghitung jumlah sel *yeast* dan mengukur pH selama proses fermentasi. Pada proses destilasi dengan menggunakan rotary vakum evaporator perlu dilakukan destilasi dengan suhu yang sesuai ataupun dapat digunakan alat GC (*gas chromatography*)

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis D.Y.R.S mengucapkan terima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia sehingga naskah tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar. Kepada dosen pembimbing Pak Triono Bagus Saputro S.Si.,M.Biotech dan Pak Dr. Anton Muhibudin SP.MP, serta kepada keluarga, teman-teman dan semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian naskah tugas akhir ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Ma'shum, J. Soedarsono, dan L. Susilowati. "Biologi Tanah. CPU Pasca IAEUP, Bagpro Peningkatan Kualitas Sumberdaya Manusia". Ditjen Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta. (2003).
- [2] R. Wardani. "Analisis Kualitas Lahan Untuk Kebun Apel Pada Berbagai Bentuk Lahan Di Kecamatan Bumijati Batu". Universitas Brawijaya. Malang. (2005).
- [3] W. Meng, C. Jia-Kuan, C and L. Bo. "Characterization of bacterial community structure and diversity in rhizosphere soils of three plants in rapidly changing salt marshes using 16S Rdna". *Pedosphere*. Vol.17, No.5 (2007) 545-556.
- [4] R.E. Hoagland, dan R.D. Williams. "The Influence of Secondary Plant Compounds on The Associations of Soil Microorganisms and Plant Roots. In The Chemistry of Allelopathy. Biochemical Interactions among Plants". Washington D. C: *American Chemical Society*: (1985) 301-325.
- [5] A.G. Kartasapoetra, M. M. Sutedjo dan R. D. S. Sastroatmodjo. "Mikrobiologi Tanah". Jakarta: Rineka Cipt. (1991).
- [6] B.J.J. Lugtenberg and Lev V Kravchenko. "Tomato Seed And Root Exudate Sugars:Composition, Utilization By Pseudomonas Biocontrol Strains And Role In Rhizosphere Colonization". *Environmental Microbiology*. Vol 1 (5). (1999). 439-446
- [7] A. Muhibuddin, dan I. Sastrahidayat. "Soil Drive Nutrients Creation through Alternate Host System Propagation of VAM to Support Selective Exploration of Microbial Fermentation". Universitas Brawijaya. Malang. (2015).
- [8] S. Fardiaz. "Mikrobiologi Pangan I". Jakarta. Gramedia Pustaka Utama. (1992).
- [9] K. Van-Rijj. "The Yeasts: A Taxonomic Study". Elsevier Science: Amsterdam. 1987.
- [10] V. Lundblad dan K. Struhl. "Yeast. Current Protocols in Molecular Biology". USA: John Wiley and Sons, Inc. (2008).
- [11] V.N. Jisha, R.B. Smitha and S. Pradeep. "Versatility of Microbial Proteases". *Advances in Enzyme Research 1*: (2013) 39-51.
- [12] S. Maturindo. "Hidrolisis Enzimatis Limbah Tongkol Jagung Oleh *Penicillium* sp. H9 Dengan Variasi Ph Dan Suhu". (*Skripsi*). Surabaya: Universitas Airlangga. (2014).
- [13] F.I. Oktavia, D.A Bambang, dan L. Musthofa. "Hidrolisis Enzimatis Ampas Tebu (Bagasse) Memanfaatkan Enzim Selulase dari Mikrofungi *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Sebagai Katalisator dengan Pretreatment Microwave". *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. Vol. 2 No. 3.(2014) 256-262.
- [14] M. Bhavan. "Tables For Alcoholometry Pyknometer Method". *Bureau Of Indian Standarts*. New Delhi. (1991).
- [15] J.P. Harley, Lansing, dan Prescott, *Laboratory Exercises in Microbiology Fifth Edition*, New York: Mc Graw-Hill Companies. (2002).
- [16] C.P. Kurtzman, C.J Robnett, C. J. and E. Basehoar-Powers. "Phylogenetic relationships among species of *Pichia*, *Issatchenkia* and *Williopsis* determined from multigene sequence analysis, and the proposal of *Barnettozyma* gen. nov., *Lindnera* gen. nov. and *Wickerhamomyces* gen. nov". *FEM Yeast Res* 8, (2008) 939-954
- [17] C.P. Kurtzman and W.F. Jack. "The Yeast A Taxonomic Study". Elsevier. NewYork. (1998).
- [18] W. Winn, S. Allen, W. Janda, E. Koneman, G. Procop, P. Schreckenberger, and G. Woods. "Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 6th ed". Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA. (2006).
- [19] E. Oura. "Reaction Product of Yeast Fermentations". Di dalam H. Dellweg (ed.). *Biotechnology Volume III. Academic Press*, New York. (1983).
- [20] R. Natsir. "Hubungan Salinitas Perairan Dengan Kuantitas Bioetanol yang Dihasilkan Oleh Nipah (*Nypa fruticans*) Pada Berbagai Metode". *Skripsi*. Makassar. Program Studi Ilmu Kelautan. Universitas Hasanuddin. (2003).
- [21] H. Subekti. "Produksi Etanol dari Hidrolisis Fraksi Selulosa Tongkol Jagung oleh *Saccharomyces cerevisiae*". *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. (2006).
- [22] Y. Jungwoo. "Enhanced Bioethanol Production by *Zymomonas mobilis* in Response to the Quorum Sensing Molecules AI-2". *Thesis*. Durham University. (2011).
- [23] T. Roukas. "Continuous Ethanol Production from Nonsterilized Carob Pod Extract by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* on Mineral Kissiris Using A Two-reactor System". *Journal Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 59, No. 3. (1996).
- [24] Wignyanto, Suharjono, dan Novita. "Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Saei Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol". *Jurnal Teknologi Pertanian*. VOL. 2, NO. 1, (April 2001) : 68-77.
- [25] F. Hartina, A. Jannah, A. Maunatin. 2014. "Fermentasi Tetes tebu Dari Pabrik Gula Pagotan Madiun Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* Untuk menghasilkan Bioetanol Dengan Variasi pH Dan Lama Fermentasi". *Alchemy*. 3(1): (2014) 93-100.
- [26] T. Arifa, A. Madiha, dan F. Tasnim. "Effect Of Cultural Conditions on Ethanol Production By Locally Isolated *Saccharomyces Cerevisiae*". *BIO-07. J. App Pharm* 3(2): (2010) 72-78.
- [27] D.R. Berry dan C. Brown. "Physiology of yeast growth, in *Yeast Biotechnology*". Berry D.R., Rusell I. and Steward G.G., Eds., Allen & Unwin London 159. (1987).