

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekaryasiswa sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Marlina Ardiyani, Tukirin Partomihardjo

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi—LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jln Raya Jakarta-Bogor Km 46,

Cibinong 16911, Bogor - Indonesia

Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id

ksama_p2biologi@yahoo.com

herbogor@indo.net.id

Keterangan gambar cover depan: *Pembangunan perumahan di Passo dan tumpukan sampah yang mempercepat proses sedimentasi di areal hutan mangrove daerah Passo, Teluk Ambon, Maluku, sesuai makalah di halaman 481*

Suyadi - Bogor Agricultural University-SEAMEO Biotrop.



LIPI

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

ISSN 0126-1754

Volume 9, Nomor 5, Agustus 2009

Terakreditasi A

SKKepala LIPI

Nomor 180/AU1/P2MBI/08/2009

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - *Aspek/ pendekatan biologi* harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.
Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. Hasil dipisahkan dari Pembahasan.
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - a. Jurnal
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43,1559-1576.
 - b. Buku
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan beberapa aspek biologi sotong buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di sekitar perairan pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Am, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Chapman and Hall. London.
10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogor@indo.net.id
11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr. Joko Sulistyono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid AH Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Moge (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Sunarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Suidiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Andi Utama (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)

Veteriner

Prof Dr Fajar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryono (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan AH (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr. Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
9(5)-Agustus 2009

Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Bambang Sunarko - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Heddy Yulistiono - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Prof. (Ris.) Dr. Johanis P. Moge - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Magdalena Litaay - *FMIPA Universitas Hasanudin*
Dr. Rasti Saraswati - *BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*
Dr. Tukirin Partomohardjo - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Yuyu Suryasari Poerba - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

Dr. Achmad Dinoto - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Drs. Edi Mirmanto, MSc. - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Herwint Simbolon - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Ibnu Maryanto - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Kuswata Kartawinata - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI (Purnabhakti) / UNESCO*
Dr. Niken T Murti Pratiwi - *Faperikan @ Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor*
Dr. Ocky Kama Radjasa - *Faperikan @ Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro*
Wellyzar Sjamsulrizal, PhD - *FMIPA Universitas Indonesia*

DAFTAR ISI

TINJAUAN ULANG (REVIEW PAPERS)

KONSEP JEMS PALEM: SEBUAH PENGANTAR

[Palm Species Concept: A Foreword]

Himmah Rustiami.....459MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)KINERJA *Saccharomyces cerevisiae* REKOMBINAN [GLOI] DALAM PROSES SIMULTAN
HIDROLISIS PATI DAN FERMENTASI UNTUK PRODUKSI BIOETANOL[The Performance of *Saccharomyces cerevisiae* Recombinant [GLOI] in the Producing Bioethanol
from Starch by Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) Conditions]*Afqf Baktir, Nur Cholifah dan Sri Sumarsih*.....465PENINGKATAN PRODUKSI GAS HIDROGEN (H₂) DAN ETANOL PADA *Bacillus pumilus*
DENGAN MUTASI MENGGUNAKAN *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) DAN SELEKSI
DENGAN METODA PROTON SUICIDE[Enhancement of Hydrogen Gas (H₂) and Ethanol Production in *Bacillus pumilus* by Mutation
Using Ethyl Methane Sulfonate (EMS) and Selected by Proton Suicide Method]*Trismilah dan Mahyudin AR*.....473

KONDISI HUTAN MANGROVE DI TELUK AMBON: PROSPEK DAN TANTANGAN

[The Condition of Mangrove Forest in Ambon Bay: Prospect and Challenges]

Suyadi.....481STUDI VEGETASI HUTAN RAWA AIR TAWAR DI CAGAR ALAM RIMBO PANTI,
SUMATERA BARAT

[Vegetation Study on Freshwater Swamp forest of Rimbo Panti Nature Reserve, West Sumatera]

Razali Yusuf dan Purwaningsih.....491IDENTIFIKASI MOLEKULAR ISOLAT KAPANG PENGHASIL p GLUCAN BERDASARKAN
DAERAH INTERNAL TRANSCRIBED SPACER (ITS)[Molecular Identification of Fungal Isolate Produces (Glucan Based on Internal
Transcribed Spacer (ITS)]*Yoice Srikandace, Ines Irene Caterina A dan Wibowo Mangunwardoyo*.....509ABSORPSI GLUKOSA DAN SUKROSA SEBAGAI SUMBER KARBON UTAMA
OLEH KOMUNITAS MPG PADA KONDISI ANAEROBIK AEROBIK[Absorption of Glucose and Sucrose as Main Sources of Carbon by MPG Community in
Anaerobic Aerobic Condition]*Dyah Supriyati*.....517UJI DAYA HAMBAT DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.) TERHADAP*Trichophyton mentagrophytes* DAN *Candida albicans*[Inhibition Potential of *Melastoma malabathricum* L. Leaves Against *Trichophyton mentagrophytes*
and *Candida albicans*]*Djaenudin Gholib*.....523PERTUMBUHAN DAN AKUMULASI MERKURI BERBAGAI JENIS TUMBUHAN YANG DITANAM
DI MEDIA LIMBAH PENAMBANGAN EMAS DENGAN PERLAKUAN BERBAGAI TINGKAT
KONSENTRASI MERKURI DAN KELAT AMONIUM TIOSULFAT[Growth and Mercury Accumulation on Various Plant Species Grown on Gold Mine Waste Media
Treated with Different Levels Of Mercury Concentration and Ammonium Thiosulfate
as Chelating Agent]*Titi Juhaeti, N Hidayati, F Syarif dan S Hidayat*.....529PENINGKATAN PRODUKSI BENIH BAUNG (*Mystus nemurus*) MELALUI PERBAIKAN
KADAR LEMAK PAKAN INDUK[Producing Good Quality Seed of Green Catfish (*Mystus nemurus*) by Improvement of Lipid Level
of Broodstock Feed]*Ningrum Suhenda, Reza Samsudin dan Jojo Subagja*.....539

ANALISA VEGETASI HUTAN RIPARIAN DATARAN RENDAH DI TEPI SUNGAI NGGENG, TAMAN NASIONAL KAYAN MENTARANG, KALIMANTAN TIMUR [Vegetation Analysis of Lowland Riparian Forest at Nggeng River Side in Kayan Mentarang National Park, East Kalimantan] <i>Purwaningsih</i>	547
SISTEM SOSIAL JANTAN MONYET HITAM SULAWESI (<i>Macaco nigra</i>) DI CAGAR ALAM TANGKOKO-BATUANGUS, SULAWESI UTARA [Male Social System of Sulawesi Crested Black Macaques (<i>Macaca nigra</i>) at Tangkoko-Batuangus, North Sulawesi] <i>Saroyo</i>	561
STUDI FITOKIMIA <i>Baekeafrutescens</i> L: PENGARUH FAKTOR LINGKUNGAN TERHADAP KOMPOSISI KIMIA MINYAK ATSIRI [Phytochemical Study of <i>Baekeafrutescens</i> L.: Environmental Influence on Chemical Composition of its Essential Oils] <i>Tri Murningsih</i>	569
VARIASIINTRASPEKIES <i>Monascuspurpureus</i> DALAM BERBAGAI SAMPEL ANGKAK DARI JAWA TIMUR [Intraspecific Variation within <i>Monascus purpureus</i> in some Angkak (Chinese Red Rice) Samples from East Java] <i>Nandang Suharna</i>	577
KONDISI OPTIMUM FUSIPROTOPLAS ANTARA JAMUR TIRAM PUTIH (<i>PLEUROTUS FLORIDAE</i>) DAN JAMUR TIRAM COKLAT (<i>PLEUROTUS CYSTIDIOSUS</i>) [Optimizing Conditions for Protoplast Fusion between White Oyster Mushroom (<i>Pleurotus floridae</i>) and Brown Oyster Mushroom (<i>Pleurotus cystidiosus</i>)] <i>Ira N. Djajanegara dan Korri El-khobar</i>	585
INTERSPECIFIC ASSOCIATION PATTERNS AND EDAPHIC FACTORS' INFLUENCES: A CASE STUDY OF <i>Orania regalis</i> Zippelius IN WAIGEO ISLAND, WEST PAPUA [Pola Asosiasi Antarspesies dan Pengaruh Faktor Edafik: Studi Kasus <i>Orania regalis</i> Zippelius di Pulau Waigeo, Papua Barat] <i>Didik Widyatmoko</i>	595
EVALUASI KARAKTER PEKA PANJANG HARI (PHOTOPERIOD) PADA TIGA GOLONGAN (subspecies) PADI (<i>Oryza sativa</i>) SERTA PENGARUHNYA TERHADAP KARAKTER AGRONOMIS [Evaluation of Photoperiod Sensitive Character in Three Groups (subspecies) of Rice (<i>Oryza sativa</i>) and The Influence of Agronomic Characters] <i>Tintin Suhartini</i>	609
STATUS HARA DI HUTAN GEWANG (<i>Corypha Man</i> Lamk.), DESA USAPI SONBA'I, KUPANG, NUSA TENGGARA TIMUR [Status in The Forest Gewang Nutrients (<i>Corypha utan</i> Lamk.), Usapi Sonba'i, Kupang, East Nusa Tenggara] <i>Laode Alhamd, T Partomihardjo dan BP Naiola</i>	619
TEGAKAN BAMBU DI KEBUN RAKYAT KOTAMADYA SALATIGA [Bamboo Stands in The Community Garden at Salatiga District] <i>Elizabeth A. Widjaja, Sunaryo, Hamzah</i>	629
EKOLOGI DAN PERSEBARAN GEWANG (<i>Corypha utan</i> Lamk.) DI SAVANA TIMOR, NUSA TENGGARA TIMUR [Ecology and Distribution of Gewang (<i>Corypha utan</i> Lamk.) in Timor Savannah, East Lesser Sunda Islands] <i>Tukirin Partomihardjo dan BP Naiola</i>	637

**KINERJA *Saccharomyces cerevisiae* REKOMBINAN [*GLO1*] DALAM PROSES
SIMULTAN HIDROLISIS PATI DAN FERMENTASI
UNTUK PRODUKSIBIOETANOL¹**
[The Performance of *Saccharomyces cerevisiae* Recombinant [*GLO1*]
in The Producing Bioethanol from Starch by Simultaneous Saccharification and
Fermentation (SSF) Conditions]

Afaf Baktir^{^*}, Nur Cholifah, Sri Sumarsih

Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga

Jin. Mulyorejo Kampus C Surabaya 60115 Telp/Fax: 031 -5922427

'e-mail: afafi2001@yahoo.com; afafi@unair.ac.id

ABSTRACT

Recent development in fermentations for bioethanol production were focused three factors, i.e. abundance and cheap substrates, superior yeast fermenting the substrates, and simultaneous saccharification and fermentation (SSF) technology. Nowadays national and world bioethanol production still depend on sugar cane and starchy materials. This research aims to determinate the optimum simultaneous saccharification and fermentation (SSF) conditions to identify the performance of local strain *Saccharomyces cerevisiae* recombinant [*GLO1*] in the producing bioethanol from starch. The optimum conditions for SSF process are in a media composition containing glucose 2% (w/v), starch 5% and at aeration rate 50 rpm. At these optimum conditions *Saccharomyces cerevisiae* recombinant [*GLO1*] produce 25.36% (v/v) bioethanol at day-20 of the fermentation process design.

Kata kunci: *Saccharomyces cerevisiae*, rekombinan, strain lokal, simultaneous saccharification and fermentation, bioetanol.

PENGANTAR

Secara tradisional produksi etanol dari bahan baku berbasis pati dilakukan dalam dua tahap proses berurutan yang terpisah satu sama lain, dinamakan metode *sequential two-step process*. Pada proses pertama pati dihidrolisis menjadi glukosa oleh α -amilase dan glukoamilase, kemudian dilanjutkan dengan proses keduanya yaitu fermentasi glukosa menjadi bioetanol oleh ragi. Kekurangan metode ini berkaitan dengan penurunan aktivitas enzimatik dan kinerja ragi yang diakibatkan oleh efek inhibisi yang berasal dari kadar glukosa tinggi dalam media fermentasi. Cara mengatasi hal ini adalah dengan menyelenggarakan proses satu tahap, yang terdiri dari dua jenis reaksi yang berlangsung secara simultan. Reaksi pertama adalah hidrolisis pati menjadi glukosa (sakarifikasi), yang berlanjut secara simultan dengan reaksi kedua yaitu konversi glukosa menjadi bioetanol (fermentasi). Metode ini dikenal dengan *simultaneous saccharification and fermentation* (SSF), memerlukan strain ragi rekombinan (Altintas *et al.*, 2002; Kroumov *et al.*, 2006). Di samping dapat meningkatkan kinerja ragi dalam proses produksi etanol dari pati, metode SSF juga memberikan efisiensi peralatan dan waktu produksi. Pada penelitian ini proses SSF diaplikasikan

untuk produksi bioetanol dari pati dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* [*GLO1*] (Baktir *et al.*, 2009).

Saccharomyces cerevisiae rekombinan [*GLO1*] adalah *S. cerevisiae* galur lokal yang telah disisipi gen penyandi enzim glukoamilase (*GLO1*). Berkaitan dengan penyisipan gen *GLO1*, Baktir *et al.* (2009) telah melaporkan isolasi dan rekayasa ragi dari minuman Legen terfermentasi, dan memperoleh galur lokal *S. cerevisiae* rekombinan [*GLO1*] yang memiliki daya toleran bioetanol sebesar 13,5%, toleran glukosa dan sukrosa sebesar 40%, serta memiliki kemampuan mengekspresikan gen *GLO1*, yaitu gen penyandi enzim glukoamilase yang berasal dari *Endomycopsis fibuligera* (Baktir *et al.*, 1995). Pada penelitian ini ragi *S. cerevisiae* rekombinan (*GLO1*) ditentukan kinerjanya untuk konversi pati menjadi bioetanol dengan teknologi SSF.

Baktir (1991) melakukan identifikasi, produksi dan amobilisasi amilase dari *Endomycopsis fibuligera* ITB R.cc.64 untuk proses sakarifikasi dalam produksi sirup glukosa dari pati sago. Baktir (1995) mengidentifikasi dan memisahkan enzim glukoamilase dan α -amilase dari mikroorganisme tersebut. Dua

laporan penelitian tentang enzim penghidrolisis pati dari *E. fibulgera* ITB R.cc.64 ini membuktikan keberadaan dan kinerja glukoamilase [GLOI]. Oleh karena itu Purkan *et al.* (2006) melakukan kloning gen penyandi enzim amilase tersebut [GLOI]. Selanjutnya kloning [GLOI] tersebut ditransformasi dan diekspresi menggunakan inang *S. cerevisiae strain* lokal yang memiliki toleransi tinggi terhadap etanol, glukosa dan sukrosa Baktir *et al.* (2009).

Keberlangsungan proses fermentasi menggunakan mikroorganisme bergantung pada beberapa variabel, meliputi kondisi aerasi, keberadaan nutrisi dan lain-lain. Berdasarkan fenomena tersebut, maka dalam rangka menentukan kinerja *S. cerevisiae* rekombinan [GLOI] untuk produksi bioetanol menggunakan teknologi SSF, perlu dilakukan optimasi kondisi fermentasi. Optimasi tersebut meliputi kadar glukosa awal, kadar pati dan tingkat aerasi untuk suplai oksigen selama proses fermentasi alkohol oleh *S. cerevisiae* rekombinan (GLOI).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut: Berapakah kadar bioetanol yang dihasilkan pada proses SSF oleh *S. cerevisiae* rekombinan (GLOI).

BAHANDANCAKERJA

Bahan

Mikroorganisme yang digunakan adalah ragi rekombinan yang telah diidentifikasi sebagai *S. cerevisiae* rekombinan (GLOI), koleksi Laboratorium Biokimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Mikroorganisme ini didapat dari penelitian sebelumnya, dan telah dibuktikan kemampuannya mengekspresikan enzim glukoamilase secara kualitatif (Baktir *et al.*, 2009).

Media yang digunakan untuk kultivasi ragi adalah media yeast extract trypton glucose (YETG) padat dan cair, mengandung ekstrak ragi 0,5%, tripton 1% dan glukosa 0,2% (Baktir *et al.*, 2009). Media fermentasi untuk produksi bioetanol juga menggunakan media YETG dengan variasi kadar glukosa dan pati.

Cara Kerja

Optimasi kondisi fermentasi

Optimasi kondisi fermentasi meliputi optimasi kadar glukosa awal dan kadar pati optimum dalam media fermentasi, serta tingkat aerasi optimum. Kadar glukosa awal divariasikan 0,5, 1 dan 2% (b/v) dalam media fermentasi mengandung pati 5%. Fermentasi dilangsungkan pada suhu 30°C sambil diaduk dengan penggojokan 35 rpm. Kemudian dilakukan uji kadar bioetanol, kadar glukosa, dan kadar pati pada hari ke 3 dan seterusnya sampai kadar bioetanol yang dihasilkan menurun, yaitu pada hari ke 13.

Tingkat aerasi proses fermentasi divariasikan melalui penggojokan pada 35, 50, dan 100 rpm. Proses fermentasi dilakukan seperti pada prosedur optimasi kadar glukosa awal.

Kadar pati optimum dalam media fermentasi divariasikan 5, 7 dan 10% (b/v). Kemudian dilakukan prosedur seperti pada penentuan kadar glukosa awal optimum.

Uji kadar bioetanol

Kadar bioetanol untuk optimasi kondisi fermentasi ditentukan dengan menggunakan alkoholmeter (**Henan Hi-Tech Instruments, spesifikasi: vol 0-30**). Pada saat digunakan alat tersebut selalu distandarisasi melalui pembuatan kurva standar bioetanol sebagai berikut. Disiapkan larutan standar bioetanol dengan variasi konsentrasi 0,5; 1; 5; 10; 15; 20; 25; dan 30% (v/v). Kemudian tiap larutan tersebut diukur kadar bioetanolnya dengan alkoholmeter, dan dibuat persamaan regresi linier.

Uji kadar glukosa

Kadar glukosa yang terbentuk selama proses fermentasi bioetanol diuji dengan menggunakan metode DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visible, Pharmaspec 1700, Shimadzu pada panjang gelombang 550 nm (Miller, 1960).

Uji kadar pati

Kadar pati sisa ditentukan dengan menggunakan larutan I₂ 0,031% dalam 0,003% KI. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible, Pharmaspec 1700, Shimadzu pada panjang gelombang 615 nm (Rice, 1959).

Analisis Data

Data kadar glukosa, tingkat aerasi dan kadar pati optimum adalah data setiap parameter tersebut yang menghasilkan bioetanol tertinggi.

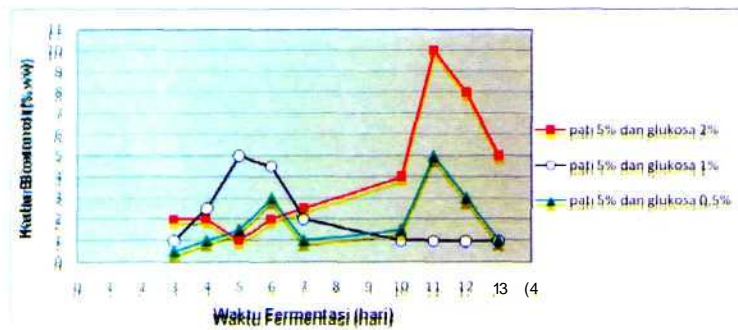
HASIL

Oprimasi kadar glukosa dalam media fermentasi

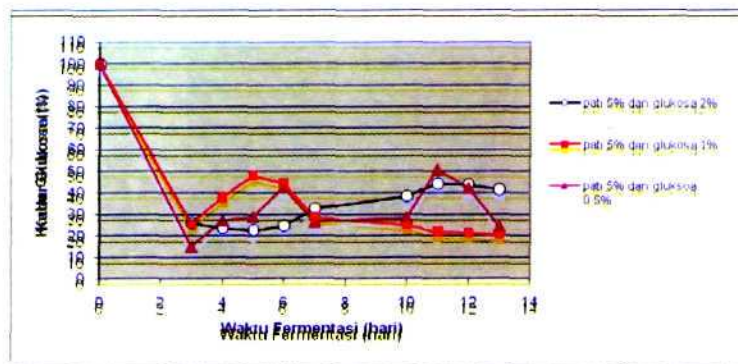
Data hasil analisis kadar bioetanol, kadar glukosa, dan kadar pati sisa pada proses fermentasi unruk optimasi kadar glukosa terdapat berturut-turut pada Gambar 1,2 dan 3.

Percobaan fermentasi yang sama dilakukan tanpa penambahan glukosa sebagai sumber karbon awal. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa biakan fermentasi sampai hari ke 7 tidak menghasilkan bioetanol. Adapun percobaan fermentasi menggunakan glukosa (3% b/v) sebagai satu-satunya sumber karbon tanpa penambahan pati, dihasilkan bioetanol tertinggi pada hari ke-6, yang lebih rendah yaitu sebesar 4,7% (v/v).

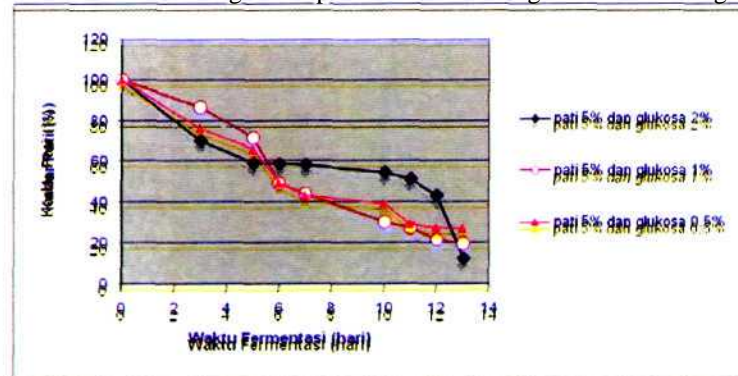
Berdasarkan kurva di Gambar 1 dapat diketahui bahwa kadar glukosa optimum yang berfungsi sebagai



Gambar 1. Profil kadar bioetanol pada fermentasi dengan variasi kadar glukosa



Gambar 2. Profil kadar glukosa pada fermentasi dengan variasi kadar glukosa



Gambar 3. Profil kadar pati sisa pada fermentasi dengan variasi kadar glukosa

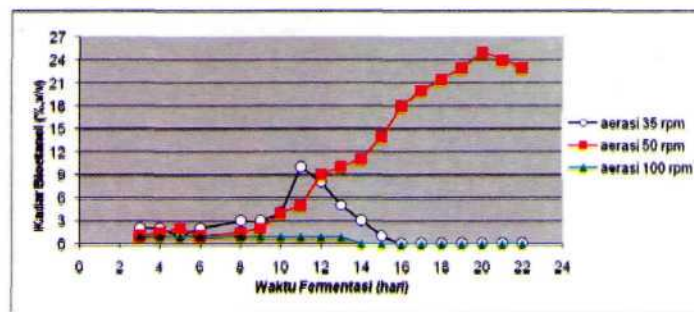
karbon awal pada proses fermentasi adalah sebesar 2% (b/v). Hal ini ditunjukkan dengan produk bioetanol yang tertinggi di antara kadar glukosa yang lain, yaitu sebesar 10,06% (v/v) pada hari ke-11 fermentasi. Adapun profil kadar glukosa dan pati selama fermentasi tersebut terdapat pada kurva di Gambar 2 dan Gambar 3. Glukosa pada hari ke-0 adalah 100%, yang merupakan glukosa yang ditambahkan dalam media YETS sebagai sumber karbon awal (Gambar 2). Pada saat glukosa mengalami penurunan (Gambar 2), tampak pada Gambar 3 bahwa pati juga mengalami penurunan karena dihidrolisis menjadi glukosa. Akan tetapi, peningkatan

kadar glukosa tidak begitu tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa yang berasal dari pati langsung digunakan untuk proses metabolisme menjadi bioetanol maupun untuk penggantian sel.

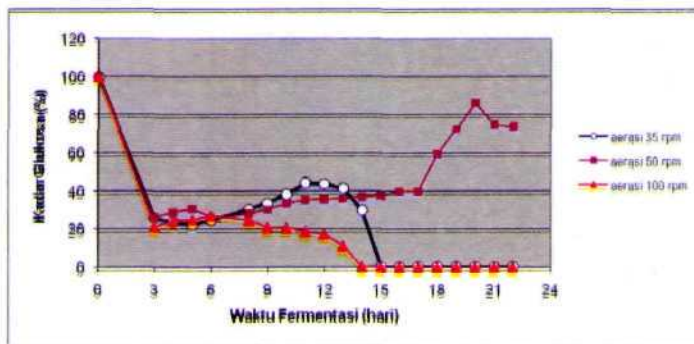
Optimasi tingkat aerasi selama proses fermentasi

Data hasil analisis kadar bioetanol, kadar glukosa, dan kadar pati sisa pada proses fermentasi bioetanol dengan variasi aerasi terdapat berturut-turut pada Gambar 4, 5 dan 6.

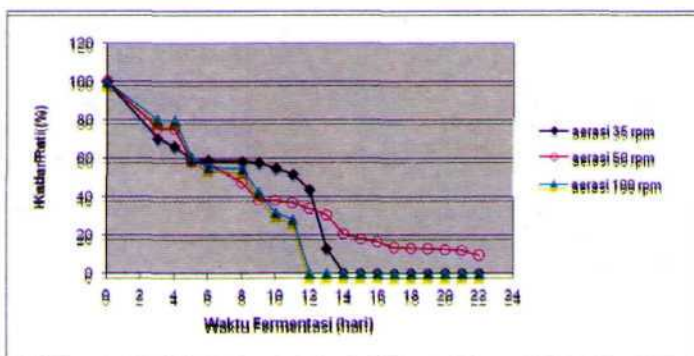
Berdasarkan data pada Gambar 4, aerasi 50 ppm adalah aerasi optimum, yang menunjukkan kadar bioetanol tertinggi, yaitu mencapai 25,36% (v/v). Kadar



Gambar 4. Profil kadar bioetanol pada fermentasi pada berbagai kondisi aerasi



Gambar 5. Profil kadar glukosa pada fermentasi dengan berbagai tingkat aerasi



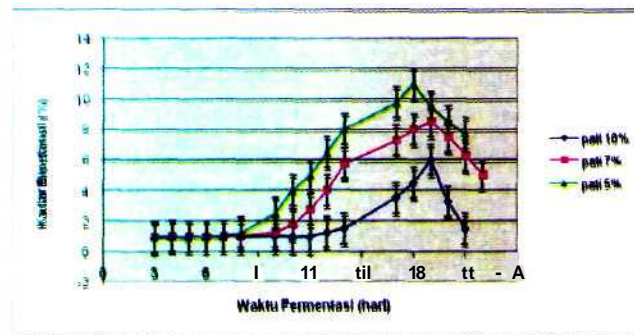
Gambar 6. Profil kadar pati pada fermentasi dengan berbagai tingkat aerasi

bioetanol ini dicapai pada hari ke-20 fermentasi. Pada proses fermentasi ini juga dilakukan pengukuran kadar glukosa dan pati sisa dalam biakan fermentasi, yang dapat membuktikan bahwa galur ragi rekombinan yang digunakan mampu bertahan dalam kondisi kadar bioetanol 25,36%. Sebenarnya viabilitas ragi selama fermentasi dapat dibuktikan dari data peningkatan jumlah sel, namun data ini tidak dapat diambil karena keberadaan pati dalam medium. Kadar pati yang digunakan cukup tinggi sehingga medium berwujud kental dan sukar untuk memisahkan sel dari campuran. Di samping itu kadar pati dalam medium tidak konstan

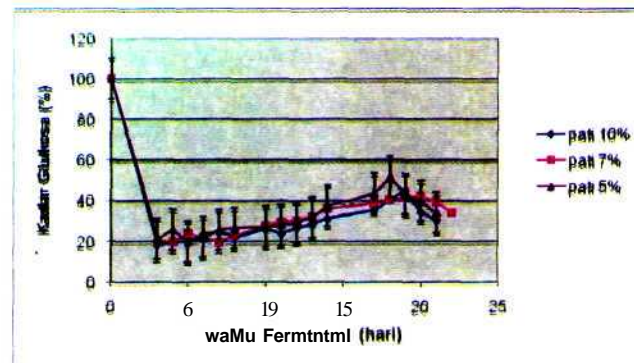
selama proses fermentasi. Pada penelitian ini penentuan jumlah sel selama proses fermentasi telah dicoba dengan metode turbidimetri maupun penentuan berat kering, namun tidak diperoleh data yang baik.

Data kadar glukosa dan pati sisa dalam biakan fermentasi mengalami penurunan seiring dengan peningkatan kadar bioetanol. Hal ini menunjukkan bahwa pati dihidrolisis menjadi glukosa oleh glukoamilase, kemudian glukosa yang terbentuk difermentasi lebih lanjut menjadi bioetanol.

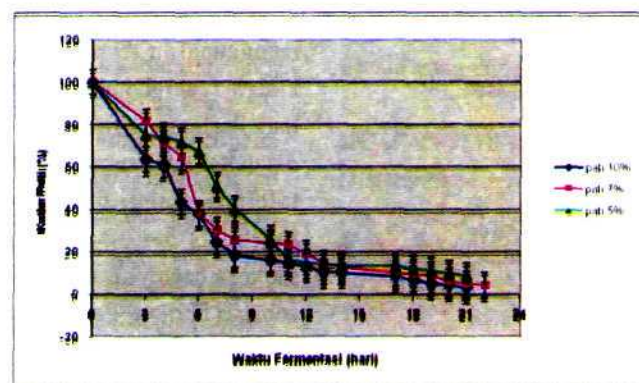
Kadar pati optimum



Gambar 7. Profil kadar bioetanol selama fermentasi dengan variasi kadar pati



Gambar 8. Profil kadar glukosa selama fermentasi dengan variasi kadar pati



Gambar 9. Profil kadar pati sisa selama fermentasi dengan variasi kadar pati

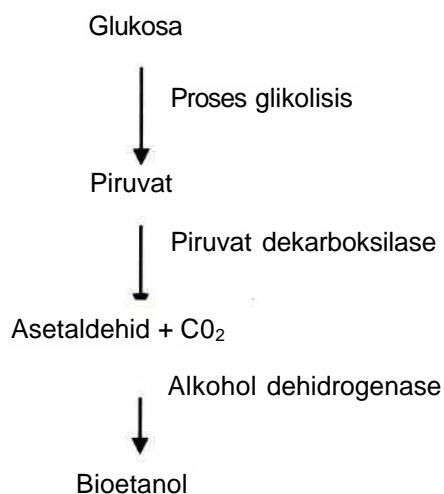
Data hasil analisis kadar bioetanol, kadar glukosa, dan kadar pati sisa pada proses fermentasi dengan variasi kadar pati terdapat berturut-turut pada Gambar 7, 8 dan 9.

Berdasarkan data pada Gambar 8 dapat diketahui bahwa di antara kadar pati yang dicoba, maka yang memberikan kadar bioetanol tertinggi adalah pati 5% (b/v).

PEMBAHASAN

Optimasi kadar glukosa dalam media fermentasi

Variasi kadar glukosa sebagai sumber karbon awal pada proses fermentasi oleh *S. cerevisiae* rekombinan (GLOI) bertujuan untuk memperoleh kadar glukosa optimum saat enzim glukoamilase rekombinan belum diekspresi di awal fermentasi. Hal ini dilakukan karena pada percobaan pendahuluan yang tanpa penambahan glukosa, maka biakan fermentasi sampai dengan hari ke 7 tidak menghasilkan bioetanol berdasarkan pengukuran dengan alat alkoholmeter. Bioetanol yang terbentuk pada percobaan ini boleh jadi sangat kecil sehingga tidak terdeteksi oleh alkoholmeter. Dengan penambahan glukosa dalam jumlah yang tepat maka penggandaan sel berlangsung baik sehingga glukoamilase segera diekspresi, reaksi sakarifikasi berlangsung dan bioetanol dihasilkan. Berdasarkan data hasil optimasi, kadar glukosa



Gambar 10. Biokonversi glukosa menjadi bioetanol (Crueger and Crueger, 2001)

optimum yang menghasilkan bioetanol tertinggi adalah 2%.

Optimasi tingkat aerasi selama proses fermentasi

Pada kondisi anaerobik pembentukan bioetanol mengikuti jalur metabolisme pada Gambar 10. Di lingkungan aerob glukosa masuk ke jalur lain, yaitu Krebs cycle dan rantai respirasi, sehingga glukosa dikonversi menjadi energi yang berguna untuk penggandaan sel dan reaksi metabolisme lain. Dalam kondisi demikian bioetanol tidak dihasilkan.

Oleh karena itu perlu ditentukan tingkat aerasi optimum yang dapat memberikan energi cukup untuk metabolisme dan penggandaan sel, namun bioetanol tetap dihasilkan. Tingkat aerasi optimum adalah kecepatan aerasi yang menghasilkan produk bioetanol tertinggi. Hasil percobaan optimasi aerasi menunjukkan bahwa aerasi 50 rpm merupakan aerasi optimum yang menghasilkan kadar bioetanol tertinggi.

Kadar pati optimum

Variasi kadar pati 5, 7 dan 10% tidak tampak pengaruhnya pada tingkat hidrolisis pati menjadi glukosa (Gambar 8 dan 9), namun berpengaruh pada kadar bioetanol yang dihasilkan (Gambar 7). Pada kadar pati yang semakin tinggi pada penelitian ini, tampak kekentalan medium semakin meningkat, dan sangat kental pada kadar pati 10%, yang berakibat aerasi sel ragi terhambat. Pada tingkat aerasi yang sangat kurang maka perkembangan sel ragi menurun, yang berakibat bioetanol yang dihasilkan menurun pula.

Kinerja *S. cerevisiae* rekombinan (GLOI) pada kondisi fermentasi optimum

S. cerevisiae rekombinan (GLOI) yang berasal dari strain lokal mampu menghasilkan bioetanol sebesar 25,36% (v/v) pada kondisi optimumnya dengan menggunakan teknologi SSF. Hal yang mendukung kinerja ragi rekombinan ini ditengarai berasal dari dua hal. Pertama, strain ragi yang digunakan memang diseleksi dari sumber potensial sehingga memiliki toleransi tinggi terhadap etanol. Kedua, regulasi hidrolisis pati yang selaras dengan ketersediaan glukosa dalam medium fermentasi (Gambar 8 dan 9) sebagai berikut. Pati sisa sebagai tampak pada kurva profil kadar pati sisa di Gambar 9, menurun tajam dari jam ke 0 hingga hari ke 10, selanjutnya kurva tetap menurun namun tidak tajam lagi. Data ini menunjukkan

bahwa hidrolisis pati berlangsung jauh lebih cepat pada 10 hari pertama fermentasi dibandingkan dengan pada **hari** berikutnya. Hal ini terjadi akibat dua kemungkinan. Kemungkinan pertama, berhubungan dengan perubahan tingkat ekspresi gen glukamilase oleh sel rekombinan. Kemungkinan kedua, berhubungan dengan regulasi aktivitas enzim glukamilase dalam menghidrolisis substrat pati. Pada regulasi aktivitas enzim dikenal mekanisme *feedback inhibition* oleh produk yang jumlahnya meningkat (terakumulasi). Berdasarkan kurva profil kadar glukosa di Gambar 8, yaitu setelah hari ke 10 tampak terjadi peningkatan glukosa dalam media fermentasi, maka diduga kemungkinan kedua yang menyebabkan penurunan laju hidrolisis pati.

Laju hidrolisis pati yang menurun sejak hari ke 10 memberikan pengaruh yang baik terhadap viabilitas sel, karena di saat kurva etanol mulai meningkat maka pengaruh akumulasi glukosa yang dapat memperburuk kondisi lingkungan justru terhambat. Mekanisme pengaturan hidrolisis pati ini diduga berperan penting pada produk bioetanol yang tinggi dalam media fermentasi, melalui penurunan efek toksik yang berasal dari kadar glukosa tinggi.

Apabila dibandingkan dengan penelitian produksi bioetanol oleh Shigechi *et al.* (2004), maka kinerja *S. cerevisiae* rekombinan (*GLOI*) lebih unggul. Penelitian Shigechi *et al.* (2004) tentang produksi bioetanol dari pati menggunakan *S. cerevisiae* YF207, kondisi yang digunakan adalah suhu 30°C dengan aerasi 100 rpm, pada hari ke-3 dihasilkan bioetanol tertinggi, yaitu sebesar 61,8 g/liter biakan fermentasi atau 6,18%.

Lyubenova *et al.* (2007) menggunakan teknologi SSF dalam produksi bioetanol, pada saat produktivitas maksimum dicapai menunjukkan data kadar bioetanol hampir 20%. Data ini lebih rendah dibanding kinerja *S. cerevisiae* rekombinan (*GLO*). Namun percobaan yang dilaporkan Lyubenova *et al.* (2007) lebih unggul dari sisi desain proses yang digunakan. Penelitian tersebut menggunakan *software sensors* yang dapat mendeteksi kadar glukosa sistem. Bila kadar glukosa sistem berubah maka akan terjadi perubahan desain *batch* dan *fed-batch* secara otomatis, sehingga kadar

glukosa terkontrol dan produksi bioetanol menjadi lebih baik.

Mikroorganisme dapat beradaptasi terhadap gangguan pertumbuhan yang berasal dari lingkungan sel, misal peningkatan kadar etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ragi *S. cerevisiae* rekombinan [*GLOI*] mampu beradaptasi terhadap kadar etanol medium yang tinggi. Hal ini berkaitan dengan proses penapisan bentuk *wild type* dari ragi rekombinan ini (Baktir, 2009). Sebelum proses transformasi, bentuk *wild type* didapat melalui proses penapisan dari minuman Legen yang difermentasi selama 7 hari. Selama proses penapisan, ragi berada dalam lingkungan dengan kadar etanol yang meningkat secara bertahap hingga mencapai 15%. Ragi yang terpapar etanol dengan kadar yang meningkat secara bertahap ini mengalami adaptasi dengan kondisi lingkungan, serta menunjukkan ukuran sel lebih kecil dibanding sel *Saccharomyces* pada umumnya (Baktir, 2009). Fakta ini sesuai dengan penelitian yang dilaporkan oleh Dinh *et al.* (2008).

Proses adaptasi *S. cerevisiae* terhadap kadar etanol tinggi telah dilaporkan berkaitan dengan perubahan komposisi fosfolipid penyusun membran sel. Perbandingan kandungan asam palmitat (C16:0) penyusun membran sel meningkat pada sel ragi yang telah beradaptasi. Ukuran sel juga mengalami penyusutan pada ragi yang beradaptasi dengan etanol kadar tinggi (Dinh *et al.*, 2008).

Walaupun kinerja *S. cerevisiae* rekombinan (*GLOI*) tinggi dalam hal kadar bioetanol yang dihasilkan dalam biakan cair fermentasi, akan tetapi desain yang dicoba pada riset ini belum optimal, karena waktu fermentasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan bioetanol sebesar 25,36% (v/v) cukup lama, yaitu 20 hari. Oleh karena itu, perlu dilakukan sedikit modifikasi desain yang dapat mempercepat waktu fermentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan terima kasih kepada Nur Cholifah atas kontribusinya dalam koleksi data riset dan Dra Sri Sumarsih, MS dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Altintas MM, B Kirdar, Z Onsan and O Ulgen. 2002.** *Process Biochem.* 37, 439-1445. In: V Lyubenova, S Ochoa, J Repke, M Ignatova and O Wozny, 2007. Control of one stage bioethanol production by recombinant strain. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 21, 372-376.
- Baktir A, E Nina and Purkan. 2009.** Transformation and expression of *Saccharomycopsis fibuligera* glucoamylase gene in *Saccharomyces cerevisiae* isolated from fermented legen. *Proceedings of Second International Conference on Basic and Applied Sciences and Regional Annual Fundamental Science Seminar, Johor Bahru, Malaysia, 2-4 June 2009.* Arifah Bahar, Normah Maan, Shajahrahtunnur Jamil, Shaza Eva Muhammad and Sugeng Triwahyono (Eds.).
- Baktir A. 1995.** Fraksinasi amilase dari *Endomycopsis fibuligera* dengan metode presipitasi amonium sulfat, *Journal of Biological Researches* 1, 77-83.
- Crueger W and A Crueger. 2001.** *A Textbook of Industrial Microbiology*, Sinauer Associate, Inc., Sunderland.
- Dinh NT, K Nagahisa, T Hirasawa, C Furusawa and H Shimizu. 2008.** Adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* cells to high ethanol concentration and changes in fatty acid composition of membrane and cell size. *PLoS ONE* 3, e2623.
- Kroumov AD, AN Modenes and MC de Araujo Tait. 2006.** *Bioch. Eng. J.*, 28, 243-255. In: V Lyubenova, S Ochoa, J Repke, M Ignatova and G Wozny, 2007. Control of one stage bioethanol production by recombinant strain. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 21, 372-376.
- Lyubenova V, S Ochoa, J Repke, M Ignatova and G Wozny. 2007.** Control of one stage bioethanol production by recombinant strain. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 21, 372-376.
- Miller G, LR Blum, WE Glennon and AL Burtton.1960.** Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chem.*, 31, 426-428.
- Purkan, S Hadi, D Natalia, NNT Puspaningsih dan Rohman A. 2005.** Konstruksi ragi rekombinan yang mampu mencerna pati melalui kloning gen penyandi enzim glukoamilase. *Laporan Penelitian DP3M-Dikti*, Jakarta.
- Rice WE. 1959.** Improved spectrophotometric determination of amyase with a new stable starch substrate solution. *Clinical Chemistry* 5, 592-596.
- Shigechi H, J Koh, Y Fujita, T Matsumoto, Y Bitto, M Ueda, E Satoh, H Fukuda and A Kondo. 2004.** Direct production of ethanol from raw corn starch via fermentation by use of a novel surface-engineered yeast strain codisplaying glucoamylase and α -amylase. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 5037-5040.