

**LAPORAN AKHIR TAHUN
HIBAH PENGEMBANGAN KAPASITAS RISET DASAR**



Peranan Ion Logam untuk Meningkatkan Toleransi Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Cekaman Lingkungan untuk Meningkatkan Perolehan Bioetanol

Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

TIM PENELITI:

Saadah D. Rachman, M.Si. (NIP: 195603131986012001/ NIDN: 0013035601)

Agus Safari, M.Si. (NIP: 195908171987031003 /NIDN: 0017085907)

Safri Ishmayana, M.Sc. (NIP: 198012272006041002 /NIDN: 0027128002)

**UNIVERSITAS PADJADJARAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DESEMBER 2016**

**HALAMAN PENGESAHAN
HIBAH PENINGKATAN KAPASITAS RISET DASAR**

Judul : Peranan Ion Logam Untuk Meningkatkan Toleransi Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Cekaman Lingkungan Untuk Meningkatkan Perolehan Bioetanol

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Saadah D. Rachman, M.Si.
NIDN : 0013035601
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Kimia
Nomor HP : 08122014513
Alamat surel (e-mail) : saadah.rachman@unpad.ac.id

Anggota (1)

Nama Lengkap : Agus Safari, M.Si.
NIDN : 0017085907
Perguruan Tinggi : Universitas Padjadjaran

Anggota (2)

Nama Lengkap : Safri Ishmayana, M.Sc.
NIDN : 0027128002
Perguruan Tinggi : Universitas Padjadjaran

Institusi Mitra (jika ada)


Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya tahun berjalan : Rp. 29.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp. 59.000.000,00

Jatinangor, 7 Desember 2016

Mengetahui,
Dekan FMIPA Unpad,


(Prof. Dr. Sudradjat, M.S.)
NIP. 197016291997021002

Ketua,


(Saadah D. Rachman, M.Si.)
NIP. 195603131986012001

Menyetujui,
Direktur Riset, Pengabdian kepada Masyarakat dan Inovasi


(Rizky Abdullah, S.Si., Apt., Ph.D.)
NIP. 197901262009121002

RINGKASAN

Pada proses fermentasi, sel ragi *S. cerevisiae* terpapar cekaman lingkungan seperti suhu, osmolaritas, radikal bebas, kekurangan nutrisi dan asam lemah. Selain itu, etanol yang dihasilkan oleh ragi juga dapat menjadi salah satu faktor cekaman. Ketika sel ragi terpapar faktor-faktor cekaman tersebut, maka dapat mengurangi kemampuan sel ragi untuk menghasilkan etanol sehingga akan menurunkan perolehan etanol pada akhir fermentasi. Berbagai usaha dapat dilakukan untuk meningkatkan toleransi sel ragi *S. cerevisiae* terhadap faktor-faktor cekaman tersebut, seperti rekayasa genetika, suplementasi media fermentasi atau kombinasi keduanya. Dengan meningkatkan toleransi sel ragi *S. cerevisiae* terhadap faktor-faktor cekaman, diharapkan dapat meningkatkan kinerja sel ragi dalam memproduksi bioetanol. Pada penelitian ini dilakukan suplementasi ion logam, yaitu logam Zn^{2+} pada media fermentasi. Pada penelitian ini digunakan medium dengan komposisi yang diketahui untuk meminimalisir faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi eksperimen. Pengaruh suplementasi ion logam terhadap pertumbuhan sel dan kinerja fermentasi dalam menghasilkan bioetanol ditentukan. Pengaruh suplementasi ini pada tingkat toleransi sel ragi terhadap beberapa faktor cekaman (seperti etanol, osmolaritas, asam lemah dan radikal bebas) juga akan dipelajari. Tingkat pertumbuhan sel ragi sangat dipengaruhi oleh keberadaan ion logam Zn^{2+} dalam media fermentasi, ditunjukkan dengan nilai densitas optik yang lebih tinggi untuk sel yang ditumbuhkan dengan adanya ion logam Zn^{2+} dalam media. Meskipun demikian, nilai viabilitas sel untuk sel ragi yang ditumbuhkan dengan adanya ion logam Zn^{2+} lebih rendah dibandingkan dengan sel ragi yang ditumbuhkan tanpa ion logam Zn^{2+} . Ukuran sel ragi juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Dengan adanya ion logam Zn^{2+} dalam media fermentasi, ukuran sel menjadi lebih besar dibandingkan dengan sel yang ditumbuhkan tanpa ion logam Zn^{2+} . Tingkat konsumsi glukosa pada media yang disuplementasi dengan Zn^{2+} lebih tinggi dan sejalan dengan hal tersebut, kadar etanol yang dihasilkan juga lebih tinggi pada media yang disuplementasi dengan Zn^{2+} mencapai ~28 mg/mL (2,8% v/v) pada waktu fermentasi 96 jam, sedangkan tanpa adanya ion logam Zn^{2+} hanya mencapai ~18 mg/mL (1,8% v/v). Hasil pengujian daya tahan sel ragi terhadap cekaman lingkungan menunjukkan bahwa ion logam Zn^{2+} dapat meningkatkan daya tahan terhadap cekaman lingkungan, dimana perlindungan terhadap cekaman oksidatif merupakan perlindungan terbaik.

PRAKATA

Puji syukur kami ucapkan ke hadirat Illahi Robbi karena kami telah menyelesaikan laporan kemajuan penelitian Hibah Peningkatan Kapasitas Riset Dasar dengan judul “Peranan Ion Logam Untuk Meningkatkan Toleransi Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Cekaman Lingkungan Untuk Meningkatkan Perolehan Bioetanol” sesuai dengan perjanjian pelaksanaan Hibah Pengembangan Kapasitas Riset Dasar tahun anggaran 2016 nomor 1094/UN6.3.1/PL/2016.

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terkait atas bantuan yang telah diberikan sehingga kegiatan penelitian ini dapat terlaksana. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat, terutama sebagai dasar pengembangan bahan bakar alternatif.

Jatinangor, 7 Desember 2016

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Fermentasi oleh Ragi.....	3
2.2 Ion logam dan peningkatan toleransi sel terhadap cekaman dan kinerja fermentasi	6
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	9
3.1 Tujuan Penelitian	9
3.2 Manfaat Penelitian	9
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	10
4.1 Alat dan Bahan	10
4.1.1 Alat.....	10
4.1.2 Bahan	10
4.2 Metodologi Penelitian	10
4.2.1 Galur ragi dan pemeliharaan	10
4.2.2 Media pertumbuhan dan kondisi kultur starter	10
4.2.3 Kondisi eksperimen dan sampling	11
4.2.4 Kurva pertumbuhan	11
4.2.5 Jumlah sel hidup	11
4.2.6 Persentase sel hidup (sel viabel)	11
4.2.7 Penentuan kadar glukosa	11
4.2.8 Penentuan kadar etanol	12
4.2.9 Toleransi sel terhadap etanol	12
BAB 5 HASIL YANG DICAPAI	13
5.1 Pertumbuhan dan Viabilitas Sel	13
5.2 Morfologi Sel	16
5.3 Konsumsi Glukosa	17
5.4 Produksi Etanol	18
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	19
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	22
7.1 Kesimpulan	22
7.2 Saran.....	22
DAFTAR PUSTAKA	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1 Skema yang menunjukkan berbagai disimilasi gula dalam mikroorganisme, yang terdiri atas tiga tahap reaksi. Nomor dalam lingkaran menunjukkan (1) jalur Embden-Meyerhof yang juga dikenal sebagai reaksi glikolisis, (2) jalur glukosa monofosfat dan (3) jalur Entner-Doudoroff	3
2.2 Skema yang menggambarkan jalur-jalur yang berbeda dalam disimilasi glukosa pada kondisi aerob pada ragi golongan Crabtree-positif (ditunjukkan dengan panah merah) dan Crabtree-negatif (ditunjukkan dengan panah hijau)	5
2.3 Konsumsi glukosa (◆) dan terbentuknya etanol (■) serta biomassa (▲) ketika ragi ditumbuhkan pada media yang mengandung glukosa pada kondisi aerobik. (A) <i>S. cerevisiae</i> (ragi golongan Crabtree-positif) dan (B) <i>K. lactis</i> (Ragi golongan Crabtree-negatif). Pergeseran diauksik ditandai dengan panah hijau pada (A)	5
2.4 Pengaruh penambahan ion logam seng terhadap toleransi sel ragi pada etanol. Sel ragi ditumbuhkan pada media dengan penambahan 0; 0,01; 0,02; 0,03 dan 0,04 g/L seng sulfat, kemudian pada akhir fermentasi dipaparkan pada etanol 18%. Tingkat viabilitas diukur setelah 1, 3 dan 5 jam terpapar etanol	6
2.5 Pengaruh penambahan magnesium terhadap fermentasi gula menjadi etanol. Kotak hitam menunjukkan sel yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan 0,5 mM MgSO ₄ , sedangkan kotak putih tanpa penambahan MgSO ₄	8
5.1 Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap pertumbuhan sel yang dimonitor dengan nilai OD pada panjang gelombang 600 nm pada waktu fermentasi yang berbeda	13
5.2 Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap pertumbuhan sel yang dimonitor dengan menghitung jumlah sel pada waktu fermentasi yang berbeda	14
5.3 Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap jumlah sel hidup yang dimonitor dengan menghitung jumlah sel yang diwarnai dengan pewarna metilen violet pada waktu fermentasi yang berbeda	15
5.4 Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap viabilitas yang dimonitor dengan menghitung jumlah sel yang diwarnai dengan pewarna metilen violet pada waktu fermentasi yang berbeda	16

Gambar		Hal
5.5	Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap diameter sel ragi. Pengukuran dilakukan pada jam ke 24	17
5.6	Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap kadar glukosa pada media fermentasi yang dimonitor dengan metode kalium ferisianida basa pada waktu fermentasi yang berbeda	18
5.7	Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap kadar etanol pada media fermentasi yang dimonitor dengan metode alkohol dehidrogenase pada waktu fermentasi yang berbeda	19
5.8	Pengaruh suplementasi seng asetat terhadap daya tahan sel ragi terhadap cekaman lingkungan yang meliputi cekaman etanol, hiperosmolaritas, asam lemah dan cekaman oksidatif. Data yang ditampilkan merupakan rerata dari tiga percobaan, error bar menunjukkan simpangan baku	20

DAFTAR TABEL

Tabel		Hal
2.1	Etanol yang dihasilkan (% v/v) oleh beberapa galur ragi dengan menggunakan 12 dan 20 (% b/b) gula dan penambahan 500 mg/L Mg ²⁺ ...	7

BAB 1

PENDAHULUAN

Bioetanol merupakan salah satu solusi yang dapat mengatasi tingginya kebutuhan energi. Pada proses produksinya, sel ragi yang berperan untuk mengubah gula menjadi etanol, terpapar berbagai cekaman seperti suhu, asam lemah, radikal bebas dan osmolaritas. Selain itu, salah satu faktor yang menjadi cekaman pada proses fermentasi adalah etanol sendiri yang merupakan produk fermentasi. Berbagai upaya dapat dilakukan untuk meningkatkan toleransi sel ragi terhadap cekaman, diantaranya dengan menambahkan suplemen yang berfungsi sebagai pelindung dan/atau rekayasa genetika. Beberapa ion logam seperti Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} dan Co^{2+} dilaporkan dapat meningkatkan toleransi sel ragi terhadap cekaman dan juga meningkatkan kinerja fermentasi sel ragi dalam menghasilkan etanol.

Salah satu peranan ion logam dalam sel hidup adalah sebagai kofaktor yang diperlukan untuk berlangsungnya reaksi enzimatik. Ion logam seng, tembaga dan mangan dilaporkan membantu proses respirasi dan juga pertumbuhan sel. Diantara enzim-enzim yang memerlukan ion logam seng sebagai kofaktor adalah alkohol dehidrogenase, alkaline fosfatase, karbonik anhidrase dan karboksipeptidase. Selain itu, ion logam Zn^{2+} juga diperlukan sebagai komponen struktural dari protein bukan enzim yang tidak memiliki aktivitas katalitik.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ion logam Zn^{2+} meningkatkan daya tahan sel ragi terhadap cekaman etanol, ditunjukkan dengan viabilitas yang lebih tinggi setelah sel dipaparkan terhadap etanol. Meskipun memberikan efek positif, jumlah ion logam Zn^{2+} yang terlalu berlebih justru ditemukan menurunkan viabilitas sel. Dengan meningkatnya viabilitas sel, diharapkan jumlah etanol yang dihasilkan akan menjadi lebih tinggi, karena jumlah sel aktif yang mengonversi gula menjadi etanol juga lebih banyak.

Selain ion logam Zn^{2+} , logam yang berperan sebagai mikronutrien juga memiliki efek positif terhadap kinerja ragi dalam mengonversi gula menjadi etanol. Salah satunya adalah ion logam Mg^{2+} . Keberadaan ion logam Mg^{2+} dalam media fermentasi meningkatkan jumlah etanol yang dihasilkan. Selain itu, toleransi sel juga lebih baik dengan adanya ion logam Mg^{2+} .