

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



**Suplementasi Inositol Untuk Meningkatkan Toleransi Sel Ragi  
(*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Cekaman Lingkungan dan  
Pengaruhnya Terhadap Kinerja Fermentasi Untuk Produksi Bioetanol**

**Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun**

**TIM PENELITI:**

**Safri Ishmayana, M.Sc. (NIP: 198012272006041002 / NIDN: 0027128002)  
Dian Siti Kamara, M.Si. (NIP: 196612061991102001 / NIDN: 0006126603)  
Nenden Indrayati A., M.S. (NIP: 195505041985032001 /NIDN: 0004055507)**

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

**HALAMAN PENGESAHAN  
HIBAH PENINGKATAN KAPASITAS RISET DASAR**

Judul : Suplementasi Inositol Untuk Meningkatkan Toleransi Sel Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Cekaman Lingkungan dan Pengaruhnya Terhadap Kinerja Fermentasi Untuk Produksi Bioetanol

**Peneliti/Pelaksana**

Nama Lengkap : Safri Ishmayana, M.Sc.

NIDN : 0027128002

Jabatan Fungsional : Lektor

Program Studi : Kimia

Nomor HP : 0817617136

Alamat surel (e-mail) : ishmayana@unpad.ac.id

**Anggota (1)**

Nama Lengkap : Dian Siti Kamara, M.Si.

NIDN : 0006126603

Perguruan Tinggi : Universitas Padjadjaran

**Anggota (2)**

Nama Lengkap : Nenden Indrayati Anggraeni, M.S.

NIDN : 0004055507

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. 29.500.000,00

Biaya Keseluruhan : Rp. 59.500.000,00

Jatinangor, 7 Desember 2016

Mengetahui,  
Dekan FMIPA Unpad,

Ketua,



(Prof. Dr. Sndradjat, M.S.)  
NIP. 197010291997021002

(Safri Ishmayana, M.Sc.)  
NIP. 198012272006041002

Mengetahui,  
Direktur Riset, Pengabdian kepada Masyarakat dan Inovasi



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

## RINGKASAN

Bioetanol dihasilkan dari proses fermentasi senyawa gula sederhana menjadi etanol dengan bantuan mikroorganisme. Sel ragi *S. cerevisiae* merupakan salah satu mikroorganisme yang paling banyak digunakan pada proses fermentasi etanol. Tingkat produksi etanol salah satunya tergantung kepada kemampuan sel ragi untuk bertahan terhadap cekaman yang ada di lingkungannya. Salah satu cekaman yang terpapar pada proses fermentasi adalah konsentrasi etanol yang semakin tinggi seiring berjalannya proses fermentasi. Berbagai upaya dilakukan untuk meningkatkan toleransi sel ragi terhadap cekaman lingkungan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan suplemen ke dalam media fermentasi yang dapat meningkatkan toleransi sel ragi terhadap cekaman. Salah satu suplemen yang potensial adalah inositol. Pada penelitian ini dilakukan penambahan inositol ke dalam media fermentasi dan melihat pengaruhnya terhadap kemampuan sel ragi untuk beradaptasi terhadap cekaman serta kinerja fermentasinya. Enam level konsentrasi inositol telah digunakan pada media fermentasi. Karena *yeast nitrogen base* yang digunakan pada penelitian ini mengandung 0,002 g/L inositol, maka pada penelitian ini kadar inositol terendah pada percobaan yang telah dilakukan adalah 0,002 g/L, kemudian ditingkatkan menjadi 0,005; 0,05; 0,1; 0,15 dan 0,2 g/L inositol. Parameter yang telah ditentukan sejauh ini adalah parameter pertumbuhan yang meliputi densitas optik, jumlah total sel, jumlah total sel hidup, viabilitas sel, kadar glukosa dan kadar etanol. Untuk pertumbuhan sel, pengaruh peningkatan kadar inositol dalam media terdeteksi terutama pada jam ke 6. Baik pengukuran OD ataupun jumlah total sel dan sel hidup yang ditentukan dengan pengukuran hemasitometer menunjukkan jumlah sel yang lebih tinggi pada media yang disuplementasi dengan 0,1; 0,15 dan 0,2 g/L inositol dibandingkan dengan media dasar, yaitu yang mengandung 0,002 g/L inositol. Viabilitas sel meningkat pada jam ke 6 mencapai >95%, namun kemudian turun secara drastis mencapai ~74% pada jam ke 12. Tidak terdeteksi adanya pengaruh kadar inositol yang meningkat terhadap viabilitas sel. Glukosa dalam media habis pada jam ke 18 pada semua media. Secara umum, pada jam ke 18 juga kadar etanol terdeteksi paling tinggi. Namun, kadar etanol paling tinggi terdeteksi pada jam ke 24 dengan media yang mengandung 0,1 g/L inositol. Perlindungan inositol terlihat pada penambahan dengan konsentrasi 0,1 g/L ditunjukkan dengan tingkat penurunan viabilitas yang lebih rendah dibandingkan penambahan dengan konsentrasi lain setelah dipaparkan pada 18% v/v etanol.

## **PRAKATA**

Puji syukur kami ucapkan ke hadirat Illahi Robbi karena kami telah menyelesaikan laporan kemajuan penelitian Hibah Peningkatan Kapasitas Riset Dasar dengan judul “Suplementasi Inositol Untuk Meningkatkan Toleransi Sel Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Cekaman Lingkungan dan Pengaruhnya Terhadap Kinerja Fermentasi Untuk Produksi 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, 8 Desember 2016

Tim Peneliti

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
RINGKASAN .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1 Toleransi Ragi terhadap Cekaman .....	3
2.2 Inositol dan peningkatan toleransi terhadap cekaman .....	3
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	7
3.1 Tujuan Penelitian .....	7
3.2 Manfaat Penelitian .....	7
BAB 4 METODE PENELITIAN .....	8
4.1 Alat dan Bahan .....	8
4.1.1 Alat .....	8
4.1.2 Bahan .....	8
4.2 Metodologi Penelitian .....	8
4.2.1 Galur ragi dan pemeliharaan .....	8
4.2.2 Media pertumbuhan dan kondisi kultur starter .....	8
4.2.3 Kondisi eksperimen dan sampling .....	8
4.2.4 Kurva pertumbuhan .....	9
4.2.5 Jumlah sel hidup .....	9
4.2.6 Persentase sel hidup (sel viable) .....	9
4.2.7 Penentuan kadar glukosa dan etanol .....	9
4.2.8 Toleransi sel terhadap etanol .....	10
BAB 5 HASIL YANG DICAPAI .....	11
5.1 Pertumbuhan sel .....	11
5.2 Viabilitas Sel .....	13
5.3 Konsumsi Glukosa .....	13
5.4 Produksi Etanol .....	14
5.5 Toleransi terhadap cekaman etanol .....	15
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA .....	17
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....	18
7.1 Kesimpulan .....	18
7.2 Saran .....	18
DAFTAR PUSTAKA .....	19

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Hal
2.1	Skema umum yang menunjukkan prinsip-prinsip respon utama ragi terhadap cekaman .....	3
2.2	Struktur enam isomer inositol yang memiliki fungsi biologis .....	4
2.3	Kurva pertumbuhan ragi yang memerlukan inositol (MC6A) pada media dengan konsentrasi inositol yang berbeda-beda .....	5
2.4	Viabilitas sel ragi yang terpapar etanol dengan konsentrasi 18% (v/v). Sel yang digunakan adalah sel ragi yang telah ditumbuhkan selama 24 jam dengan (-●-) dan tanpa (-■-) penambahan 100 mg/mL inositol .....	6
5.1	Pengaruh suplementasi inositol terhadap nilai OD pada panjang gelombang 600 nm dengan waktu fermentasi yang berbeda .....	11
5.2	Pengaruh suplementasi inositol terhadap jumlah total sel dengan waktu fermentasi yang berbeda .....	12
5.3	Pengaruh suplementasi inositol terhadap jumlah total sel hidup dengan waktu fermentasi yang berbeda .....	12
5.4	Pengaruh suplementasi inositol terhadap viabilitas sel dengan waktu fermentasi yang berbeda .....	13
5.5	Pengaruh suplementasi inositol terhadap kadar glukosa pada waktu fermentasi yang berbeda .....	14
5.6	Pengaruh suplementasi inositol terhadap kadar etanol pada waktu fermentasi yang berbeda .....	15
5.7	Pengaruh suplementasi inositol terhadap toleransi sel ragi terhadap etanol. Daya tahan ditentukan dengan menentukan sel yang bertahan hidup setelah ragi terpapar 18% v/v etanol selama 1 jam kemudian ditumbuhkan pada media agar selama 24 jam. Data yang ditampilkan merupakan rerata dari tiga percobaan dan error bar menunjukkan simpangan baku .....	15
5.8	Pengaruh suplementasi inositol terhadap toleransi sel ragi terhadap etanol. Daya tahan ditentukan dengan menentukan sel yang bertahan hidup setelah ragi terpapar 18% v/v etanol selama 1 jam dengan pewarnaan metilen violet. Data yang ditampilkan merupakan rerata dari tiga percobaan dan error bar menunjukkan simpangan baku .....	16

## **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. Salah satu faktor yang menjadi cekaman pada proses fermentasi adalah etanol sendiri yang merupakan produk fermentasi. Berbagai upaya telah dilakukan untuk meningkatkan toleransi sel ragi terhadap cekaman, diantaranya dengan menambahkan suplemen yang berfungsi sebagai pelindung, rekayasa genetika ataupun kombinasi keduanya. Inositol merupakan salah satu senyawa yang dibutuhkan dalam jumlah yang sangat sedikit dan diketahui memiliki sifat pelindung terhadap cekaman. Pada penelitian ini inositol akan digunakan sebagai suplemen dan pengaruhnya terhadap kinerja fermentasi serta efek perlindungan terhadap cekaman akan diperiksa. Dengan meningkatkan toleransi sel ragi terhadap cekaman, maka diharapkan dapat meningkatkan produksi etanol pada proses fermentasi sehingga dapat menurunkan energi yang diperlukan pada proses distilasi untuk pemurnian etanol, yang pada akhirnya akan menekan biaya produksi secara keseluruhan.

Inositol dilaporkan memiliki efek perlindungan terhadap cekaman etanol. Suplementasi media pertumbuhan dengan inositol ditemukan mengubah komposisi fosfolipid dengan meningkatkan kadar fosfatidilinositol (PI) yang terdapat pada membran plasma, sedangkan kadar fosfatidilkolin (PC) dan fosfatidiletanolamin (PE) menurun (Chi, Kohlwein & Paltauf 1999). Penelitian lain melaporkan adanya pengaruh suplementasi inositol terhadap aktivitas enzim H<sup>+</sup>-ATPase yang mampu melindungi membran plasma ragi dari kebocoran (Furukawa *et al.* 2004).

Strain ragi *S. cerevisiae* mutan yang memiliki kemampuan untuk mengakumulasi inositol intrasel dilaporkan memiliki toleransi yang baik terhadap konsentrasi etanol yang tinggi (Krause *et al.* 2007). Selain itu, Chi *et al.* (1999) melaporkan bahwa suplementasi inositol tidak hanya meningkatkan toleransi ragi terhadap konsentrasi etanol yang tinggi, tetapi juga meningkatkan produktivitas etanol. Namun, Furukawa *et al.* (2004) mengemukakan bahwa meskipun inositol dapat meningkatkan viabilitas ketika terpapar kadar etanol yang tinggi, namun tidak mempengaruhi etanol yang dihasilkan ataupun laju fermentasi.