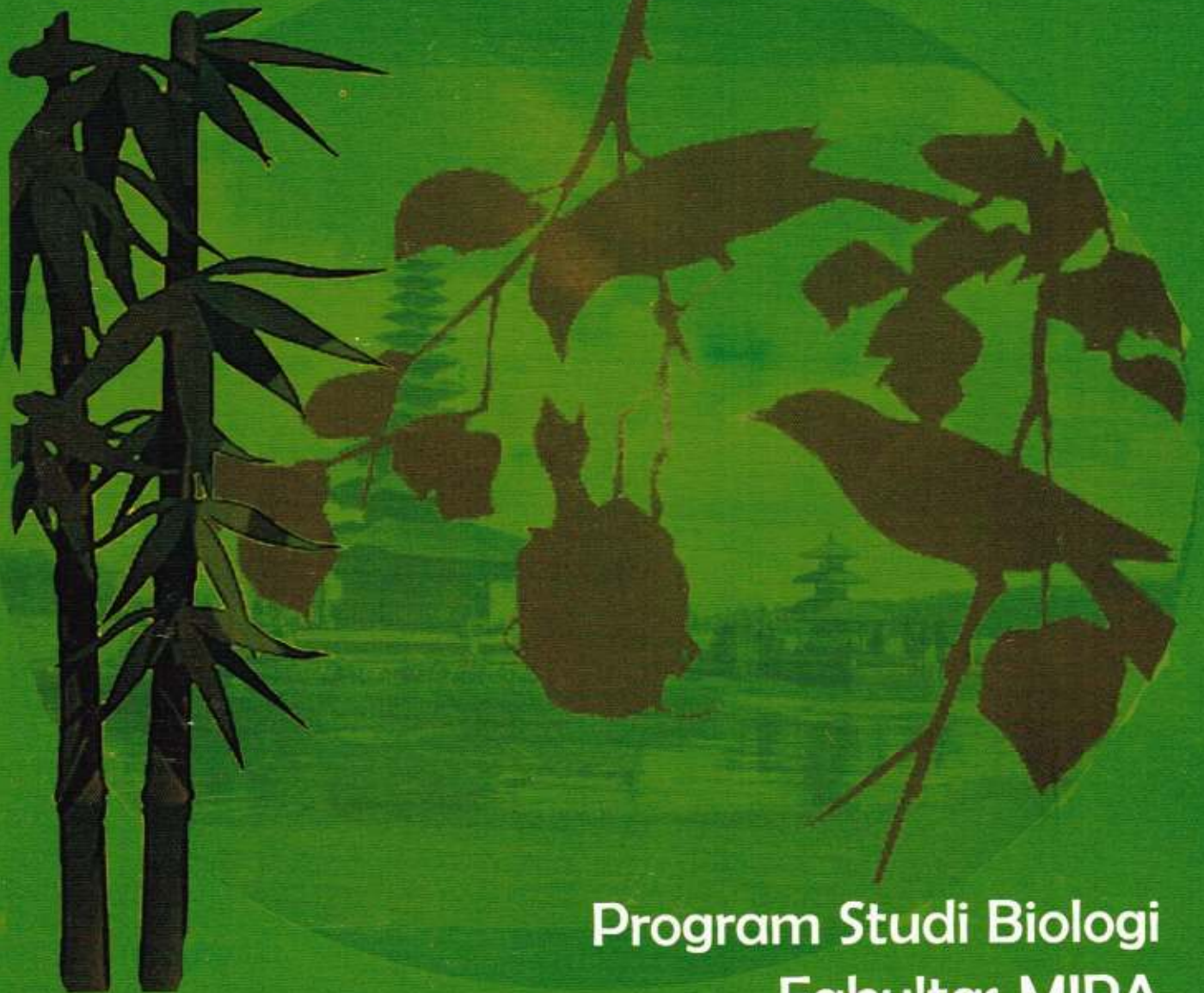


WIDYA BIOLOGI



Program Studi Biologi
Fakultas MIPA
Universitas Hindu Indonesia

WIDYA BIOLOGI

DEWAN REDAKSI

Ketua

I Nyoman Arsana

Sekretaris

I Putu Sudiartawan

Anggota

Euis Dewi Yuliana, Ni Ketut Ayu Juliasih, Ni Luh Gede Sudaryati, I Wayan Suarda, Israil Sitepu

Redaktur Ahli (*Peer Riview*)

Prof. Dr. I Dewa Made Tantera Keramas, MSc (Program Pasca Sarjana UNHI)

Dr. I Gede Ketut Adiputra (Program Studi Biologi UNHI)

Dr. I Wayan Suana, S.Si., M.Si (Program Studi Biologi UNRAM)

Jurnal Widya Biologi, (ISSN No. 2086-5783) diterbitkan oleh Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Hindu Indonesia Denpasar, sebagai wadah informasi ilmiah bidang biologi baik yang berupa hasil penelitian ataupun kajian pustaka

Jurnal Widya Biologi menerima naskah dari dosen, peneliti, mahasiswa maupun praktisi yang belum pernah diterbitkan dalam publikasi lain dengan ketentuan seperti tercantum pada bagian belakang jurnal ini.

Langganan

Jurnal Widya Biologi terbit dua nomor dalam satu tahun (Maret dan Oktober). Langganan untuk satu tahun (termasuk ongkos kirim) sebagai berikut:

1. Lembaga. Institusi : Rp. 150.000,- (seratus lima puluh ribu rupiah)
2. Individu/Pribadi : Rp. 75.000,- (tujuh puluh Lima ribu rupiah)
3. Mahasiswa : Rp. 30.000,- (tiga puluh ribu rupiah)

Pembayaran dapat dilakukan dengan cara: a) Pembayaran langsung, b) wesel pos. Salinan bukti pembayaran (b) harap dikirimkan ke redaksi.

Alamat Redaksi

Program Studi Biologi FMIPA UNHI
Jl Sangalangit, Tembau-Penatih, Denpasar, Bali
E-mail : widyabiologi@yahoo.co.id
Website : www.unhi.ac.id

DAFTAR ISI

WIDYABILOGI

<p>BIOREMEDIASI ZAT WARNA PADA AIR TERCEMAR LIMBAH INDUSTRI PENCELUPAN DENGAN PEMANFAATAN TUMBUHAN AIR DAN BIOMATERIAL ALAMI Ni Made Susun Parwanayoni</p>	1
<p>PEMANFAATAN AMPAS TEH SEBAGAI PUPUK ORGANIK UNTUK MEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN CABAI RAWIT (<i>Capsicum frutescens</i> L.) A.Sri Utami, Ni Putu Adriani Astiti, Ni Made Puspawati</p>	11
<p>POTENSI <i>Glacilaria</i> sp. SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL Ni Putu Widyastuti, Yan Ramona, Yenni Ciawi</p>	19
<p>JENIS DAN SEBARAN <i>Uca</i> spp. (CRUSTACEA: DECAPODA: OCYPODIDAE) DI KAWASAN HUTAN MANGROVE BENOA, BADUNG, BALI I Wayan Wahyudi, Ni Luh Watiniasih, Deny Suhernawan Yusup</p>	28
<p>IDENTIFIKASI JAMUR PADA LONTAR YANG DISIMPAN DI UNIT PELAKSANA TEKNIS MUSEUM BALI Ni Luh Putu Suratini dan I Putu Sudiartawan</p>	36
<p>IDENTIFIKASI KLON KAKAO PADA DUA SISTEM PERKEBUNAN BERBEDA, AGROFOREST DAN MONOKULTUR, DI KABUPATEN TABANAN I Gede Ketut Adiputra dan I Wayan Surtha</p>	42
<p>UJI SENSITIFITAS BAKTERI <i>Escherichia coli</i> TERHADAP EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (<i>Garcinia mangostana</i> L.) SECARA IN-VITRO Didik Prasetya dan I Nyoman Arsana</p>	52
<p>POTENSI EKSTRAK DAUN SIRSAK (<i>Annona muricata</i> Linn) TERHADAP SPERMATOGENESIS SEBAGAI BAHAN ANTIFERTILITAS PADA MENCIT (<i>Mus musculus</i> L) Ni Nyoman Wirasiti dan Dwi Ariani Yulihastuti</p>	59
<p>PENGARUH WAKTU FERMENTASI TEH KOMBUCHA TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI <i>Salmonella typhi</i> Desak Putra Artini dan I Wayan Suarda</p>	68

POTENSI *Glacilaria* sp. SEBAGAI BAHAN BAKU BIOETANOL

Ni Putu Widyastuti¹⁾, Yan Ramona^{1,2)}, Yenni Ciawi³⁾

¹⁾Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu Biologi, Universitas Udayana

²⁾UPT Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana

³⁾Teknik Sipil, Fakultas Teknik, Universitas Udayana

Corresponding author: yenniciawi@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi *Glacilaria* sp. sebagai bahan baku alternatif produksi bioetanol. Dalam proses fermentasi, hidrolisat *Glacilaria* sp. (yang dihasilkan melalui proses hidrolisis dengan 7% (b/v) larutan asam sulfat), divariasikan menjadi 4 konsentrasi (0%, 25%, 50% dan 95% (b/v)) dan dikombinasikan dengan 3 konsentrasi amonium sulfat (0%, 0,5% dan 1% (b/v)) sebelum diinokulasi dengan suspensi khamir. Selain pH, parameter-parameter, seperti jumlah sel khamir total, kadar gula pereduksi sisa dalam kultur, dan kadar etanol yang terbentuk, juga diukur berturut-turut dengan menggunakan metoda *spread plate count*, spektrofotometri pada 630 nm, dan penentuan densitas distilat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar etanol optimum sebesar 0,23% (v/v) atau 1,81 g/L dicapai pada hari ke-12 pada perlakuan kombinasi hidrolisat rumput laut 95% dan amonium sulfat 0,5%. Hasil ini menunjukkan hanya sebagian kecil gula diubah menjadi etanol, yang kemungkinan disebabkan oleh sifat khamir yang dipakai bukan homofermentatif sehingga mempunyai jalur metabolisme lain yang dapat mengubah gula menjadi senyawa organik lain, selain etanol.

Kata kunci : *Glacilaria* sp., fermentasi, amonium sulfat, dan bioetanol

ABSTRACT

The main aim of this research was to investigate the potential of *Gracilaria* sp. as an alternative raw material for bio ethanol production. The *Glacilaria* sp. was hydrolyzed using 7% w/v sulphuric acid to produce seaweed hydrolyzate. In the fermentation, this hydrolyzate was set at four concentration levels (0%, 25%, 50% and 95% (w/v), combined with three concentration levels of ammonium sulphate (0%, 0.5% and 1% (w/v), and used as the main fermentation media. In addition to pH level, parameters, such as yeast density (cfu/mL), sugar residue, and ethanol production were also measured using spread plate method, spectrophotometer at 630 nm, and determination of distillate density, respectively. The results showed that the optimum concentration of ethanol (0.23% (v/v) or 1.81 g/L) occurred at day 12, and this was achieved by a combination of 95% v/v seaweed hydrolyzate and 0.5% ammonium sulphate. These results indicated that only a small portion of sugar was converted into ethanol. This might be due to the yeast used in this study was not a homo-fermentative isolate so that other products (not determined in this study), other than ethanol, might also be produced.

Keywords: *Glacilaria* sp., fermentation, ammonium sulphate, and bioethanol

PENDAHULUAN

Pertambahan jumlah penduduk dan perkembangan kegiatan ekonomi di Indonesia berkorelasi dengan peningkatan kebutuhan energi. Peningkatan tersebut dapat terjadi karena lebih dari 200 juta jiwa penduduk Indonesia membutuhkan bahan bakar berupa premium dan solar berturut-turut sekitar 62 juta barrel dan sekitar 87 juta barrel per tahun untuk keperluan transportasi (BPS, 2012). Karena minyak bumi sangat terbatas dan tidak terbarukan, maka sangat penting dilakukan pengembangan sumber energi alternatif, salah satunya adalah bioetanol.

Bioetanol dapat dihasilkan dari fermentasi biomassa seperti jagung dan tongkolnya, singkong, tebu, limbah jerami, rumput laut, dan berbagai limbah berselulosa atau lignoselulosa (Devis, 2008). Kelebihan rumput laut adalah jumlahnya melimpah dan mempunyai laju pertumbuhan dan perkembangbiakan yang cepat (Anggadiredjo *et al.*, 2006). Di Bali, rumput laut yang banyak dibudidayakan adalah *Glacilaria* sp., yang mengandung komponen lignoselulosa sehingga memerlukan proses hidrolisis terlebih dahulu sebelum difermentasi menjadi alkohol. Selain itu, diperlukan sumber nitrogen paling sedikit 267 mg/L (Hakim, 2007) untuk pertumbuhan dan fermentasi khamir. Salah satu sumber nitrogen adalah amonium sulfat.

Penelitian ini mengkaji potensi rumput laut (*Glacilaria* sp.) sebagai bahan baku dalam produksi bioetanol serta pengaruh kombinasi hidrolisat rumput laut (*Glacilaria* sp.) dengan amonium sulfat terhadap kadar etanol yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Persiapan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* S14

Sebanyak 100 mL *Saccharomyces cerevisiae* S-14 diambil dari stok gliserol kemudian ditumbuhkan pada media *glucose yeast peptone* (GYP) steril dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar dalam keadaan terkocok pada 170 rpm. Dalam fermentasi, inokulum yang digunakan adalah sebanyak 8% (v/v).

Persiapan sampel rumput laut

Rumput laut jenis *Glacilaria* sp. mula-mula dibersihkan, dicuci dengan air bersih, dikeringkan dengan sinar matahari, dihancurkan dengan *blender*, dan disaring hingga diperoleh tepung rumput laut.

Hidrolisis dengan asam sulfat

Sebanyak 5 gram sampel tepung rumput laut ditimbang, dicampurkan dengan 100 mL larutan 7% v/v H₂SO₄, dipanaskan pada 100°C sambil diaduk dengan tangkai pengaduk selama 1 jam, didinginkan, dan diatur pH-nya menjadi 4,5 (Karta, 2012).

Fermentasi sampel rumput laut

Fermentasi dilakukan secara anaerob dalam botol kaca ukuran 65 mL. Dalam fermentasi, 4 variasi konsentrasi hidrolisat rumput laut (0%, 25%, 50%, dan 95% (b/v)) yang dikombinasikan dengan 3 konsentrasi amonium sulfat (0%, 0,5%, dan 1% (b/v)) dipakai sebagai media utama proses. Masing-masing kombinasi ditambahkan media GYP sebanyak 2% v/v. Fermentasi dilakukan pada suhu kamar (25°C) selama 18 hari dan parameter uji (pH, konsentrasi sel, kadar gula, dan kadar etanol) diamati setiap 3 hari.

Perhitungan jumlah sel

Metode yang digunakan adalah metode cawan tuang (Suartama, 2013). Sampel fermentasi diencerkan dengan NaCl 0,9% b/v untuk memperoleh tingkat pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁵. Kemudian, sebanyak 100 µL larutan dari tingkat pengenceran 10⁻⁴ dan 10⁻⁵ disebarkan pada permukaan media *malt extract agar* (MEA) steril, diinkubasi selama 48 jam pada 37°C, dan koloni yang tumbuh dihitung.

Penentuan kadar gula pereduksi dengan menggunakan pereaksi Anthrone

Satu mL sampel, yang telah diencerkan 20 kali, dimasukkan dalam tabung reaksi tertutup ditambahkan dengan 5 mL pereaksi Anthrone secara cepat dan dilakukan dalam lemari asap, divorteks sampai rata, dipanaskan di atas penangas air pada 100°C selama 12 menit, lalu

didinginkan. Absorbansinya diukur pada 630 nm (Apriyantono *et al.*, 1989). Konsentrasi larutan standar glukosa yang digunakan adalah 0 (blanko), 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Konsentrasi gula pereduksi dihitung dengan rumus:

$$\text{Total gula pereduksi (\%)} = \frac{G \times PP}{W} \times 100\%$$

Penentuan kadar etanol

Kadar etanol ditentukan dengan mengukur densitas distilat yang disiapkan dengan cara mendistilasi 10 mL supernatan hasil fermentasi pada 80°C sampai diperoleh hasil sebanyak 60-70% distilat dan diencerkan kembali menjadi 10 mL (volume awal) dengan aquades. Kadar etanol ditentukan dengan bantuan kurva hubungan antara densitas dengan konsentrasi standar etanol (AOAC, 1984).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Hidrolisis Rumput Laut dengan Larutan Asam Sulfat

Asam sulfat dengan konsentrasi 7% (v/v) menghasilkan rendemen gula tertinggi dalam proses hidrolisis rumput laut (Tabel 1).

Tabel 1 Kadar Gula Hasil Hidrolisis Rumput Laut dengan Asam Sulfat

Konsentrasi Larutan Asam Sulfat (% v/v)	Kadar Gula Hidrolisat (g/L)
3,5	7,22±0,007 ^b
7	8,75±0,012 ^a
14	5,00±0,012 ^c

Keterangan :

Nilai-nilai pada Tabel 1 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti notasi huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($P > 0,05$), setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).

Hasil ini mengindikasikan bahwa terjadi proses pemotongan ikatan 1,4 glikosidik antar glukosa penyusun senyawa kompleks selulosa yang terdapat dalam rumput laut (Lynd *et al.*, 2002). Rendemen gula pereduksi yang dapat dilepaskan dari selulosa masih relatif kecil, yaitu 5,00% dan 8,75%. Namun, hasil ini relatif lebih tinggi daripada ekstraksi selulosa ampas sagu dengan menggunakan H_2SO_4 0,3 N, yang menghasilkan kadar gula tereduksi sebesar 4,47 g/L (Idral *et al.*, 2013). Hal ini mungkin disebabkan oleh konsentrasi asam yang digunakan dalam penelitian ini relatif lebih tinggi, sehingga menyebabkan selulosa dan hemiselulosa lebih mudah terdegradasi menjadi glukosa (Rachmaniah *et al.*, 2009).

Konsentrasi H_2SO_4 yang lebih tinggi daripada 7% menurunkan rendemen gula pereduksi (Tabel 1), dan ini diduga disebabkan oleh pekatnya asam atau gugus H^+ pada larutan. Menurut Lavarack *et al.* (2002), pada proses hidrolisis, gugus H^+ dari asam akan mengubah gugus serat dari selulosa menjadi gugus radikal bebas, yang kemudian akan berikatan dengan gugus OH^- dari air. Konsentrasi asam yang ditingkatkan akan menyebabkan kebutuhan OH^- sebagai pengikat radikal bebas menjadi berkurang sehingga glukosa yang dihasilkan semakin sedikit.

Pengaruh Kombinasi Hidrolisat Rumput Laut dan Amonium Sulfat terhadap pH Fermentasi

Jika dibandingkan dengan pH pada hari ke-0 (Tabel 2), nilai-nilai pH pada Tabel 3 mengalami penurunan pada semua kombinasi perlakuan. pH kultur pada hari ke-12 berada pada kisaran 4,8 dan 4,4 (Tabel 3). Secara statistik, pH yang tercatat pada hari ke-12 ini berbeda nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan, walaupun tidak tampak pola yang jelas. Namun perbedaan tersebut nilainya sangat kecil yaitu tidak lebih dari 0,5 unit pH.

Tabel 2 pH Awal Medium Fermentasi sebelum Diinokulasi dengan *Starter* Khamir

Konsentrasi Hidrolisat Rumput Laut % (b/v)	Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% b/v)		
	0	0,5	1
0	5,74±0,010 ^{ab}	5,76±0,007 ^a	5,72±0,005 ^b
25	4,89±0,005 ^c	4,77±0,005 ^c	4,79±0,005 ^{de}
50	4,80±0,010 ^d	4,79±0,005 ^{de}	4,77±0,005 ^e
95	4,73±0,005 ^f	4,69±0,011 ^f	4,68±0,005 ^f

Keterangan : Nilai-nilai pada Tabel 2 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti notasi huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($P>0,05$), setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).

Tabel 3 pH kultur pada hari ke-12 fermentasi

Konsentrasi Hidrolisat Rumput Laut % (b/v)	Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% b/v)		
	0	0,5	1
0	4,510±0,010 ^{fg}	4,883±0,057 ^a	4,657±0,057 ^c
25	4,743±0,057 ^b	4,537±0,057 ^{ef}	4,623±0,057 ^d
50	4,493±0,057 ^{gh}	4,423±0,057 ⁱ	4,543±0,057 ^e
95	4,667±0,020 ^c	4,393±0,057 ^j	4,477±0,057 ^h

Keterangan : Nilai-nilai pada Tabel 3 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti notasi huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($P>0,05$), setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).

Penurunan pH ini dapat disebabkan oleh proses metabolisme gula oleh khamir yang menghasilkan asam-asam organik, seperti asam piruvat (Wignyanto *et al.*, 2001) atau reaksi antara CO_2 dengan H_2O yang menghasilkan asam karbonat (Dudi, 2001). Adanya kedua produk tersebut berkontribusi secara nyata dalam menurunkan pH medium selama proses fermentasi etanol (Wignyanto *et al.*, 2001). Penurunan pH yang tidak begitu nyata pada penelitian ini (Tabel 2 dan 3) kemungkinan disebabkan oleh penambahan amonium sulfat, yang diduga dapat berperan sebagai buffer.

Pengaruh Kombinasi Hidrolisat Rumput Laut dan Amonium Sulfat terhadap Jumlah Sel Khamir Total pada Fermentasi

Konsentrasi inokulum pada hari ke-0 adalah $8,74\pm 0,021 \log_{10}$ cfu/mL. Tabel 4 menunjukkan konsentrasi sel dalam kultur (cfu/mL) pada hari ke-12.

Konsentrasi sel dalam kultur berumur 12 hari berkisar antara $6,27 \log_{10}$ cfu/mL dan $7,10 \log_{10}$ cfu/mL (Tabel 4). Jika dibandingkan dengan konsentrasi kultur pada hari ke-0, jumlah populasi khamir total yang tercatat pada Tabel 4

Tabel 4 Konsentrasi inokulum (\log_{10} cfu/mL) dalam Kultur yang Dihitung pada hari ke-12

Konsentrasi Hidrolisat Rumput Laut % (b/v)	Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% b/v)		
	0	0,5	1
0	6,51±0,008 ^h	6,38±0,001 ⁱ	6,27±0,003 ^j
25	6,83±0,004 ^c	6,77±0,004 ^d	7,10±0,002 ^a
50	6,76±0,004 ^c	6,57±0,007 ^e	6,76±0,004 ^c
95	6,67±0,005 ^f	6,52±0,007 ^h	7,08±0,002 ^b

Keterangan : Nilai-nilai pada Tabel 4 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti notasi huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($P>0,05$), setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).

mengalami penurunan sebesar 1,64 sampai 2,47 unit log pada seluruh kombinasi perlakuan. Penurunan konsentrasi sel terjadi jika konsentrasi hidrolisat ditingkatkan pada kultur yang tidak menggunakan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan yang menggunakan 0,5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Tabel 4). Pola yang tidak jelas teramati pada semua konsentrasi hidrolisat yang dikombinasikan dengan 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Walaupun secara statistik terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$), tetapi perbedaan tersebut tidak lebih dari 0,5 unit log (Tabel 4). Terjadinya penurunan populasi khamir dari sejak diinokulasi sampai hari ke-12 (Tabel 4) kemungkinan disebabkan oleh beberapa

faktor, seperti perubahan atau penurunan pH selama proses, adanya senyawa toksik di dalam hidrolisat, berkurangnya konsentrasi gula di dalam medium, dan adanya akumulasi metabolit (termasuk etanol).

Pengaruh Kombinasi Hidrolisat Rumput Laut dan Amonium Sulfat terhadap Kadar Sisa Gula Pereduksi setelah 12 hari Inkubasi

Kadar gula pereduksi yang tersisa dalam kultur pada hari ke-12 berkisar antara 0,94 g/L dan 4,62 g/L atau terjadi penurunan kadar gula

Tabel 5 Kadar Gula (g/L) dalam Medium Fermentasi pada Semua Perlakuan Kombinasi Hidrolisat dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebelum Diinokulasi (pada hari ke-0)

Konsentrasi Hidrolisat Rumput Laut % (b/v)	Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% b/v)		
	0	0,5	1
0	1,30±0,012 ^f	1,35±0,019 ^f	1,34±0,026 ^f
25	3,51±0,052 ^e	3,55±0,007 ^e	3,97±0,037 ^d
50	5,62±0,012 ^c	5,61±0,012 ^c	5,70±0,012 ^c
95	9,65±0,019 ^b	10,24±0,110 ^a	10,16±0,044 ^a

Keterangan : Nilai-nilai pada Tabel 5 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti notasi huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($P>0,05$), setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).

pada semua kombinasi perlakuan antara 0,34% dan 7,61% terhadap kadar gula awal (Tabel 5 dan Tabel 6). Percobaan tanpa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dengan konsentrasi hidrolisat lebih tinggi menyebabkan pemanfaatan gula lebih tinggi secara signifikan (Tabel 6 kolom 1). Penurunan pemanfaatan gula terjadi pada perlakuan hidrolisat dengan konsentrasi 95% yang dikombinasikan dengan amonium sulfat pada konsentrasi 0,5% atau 1% (kolom ke 2 dan ke 3 pada Tabel 6). Pada kedua perlakuan ini, gula pereduksi yang dipakai oleh khamir hanya sebesar 6,06 g/L dan 5,54 g/L (Tabel 6).

Indikasi adanya aktivitas khamir dalam hidrolisat adalah terjadinya penurunan kandungan gula pereduksi dalam medium setelah difermentasi selama 12 hari (Tabel 5 dan Tabel 6). Dalam proses ini, gula dapat dimanfaatkan oleh khamir secara anaerob dan aerob, karena bersifat fakultatif anaerob (Azizah *et al.*, 2012). Dalam proses-proses tersebut khamir akan memperoleh energi untuk mempertahankan populasinya. Jumlah ATP yang dihasilkan pada kedua proses tersebut sangat berbeda satu sama lainnya. Pada proses aerob akan dihasilkan lebih banyak ATP daripada proses anaerob (Barnett

Tabel 6 Kadar Gula Pereduksi (g/L) pada Kultur setelah fermentasi selama 12 hari

Konsentrasi Hidrolisat Rumput Laut % (b/v)	Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% b/v)		
	0	0,5	1
0	0,96±0,007 ⁱ	0,95±0,007 ⁱ	0,94±0,007 ⁱ
25	1,20±0,014 [#]	1,10±0,007 ^h	1,50±0,007 ^f
50	1,86±0,007 ^d	2,08±0,014 ^c	1,63±0,014 ^e
95	2,04±0,007 ^c	4,18±0,007 ^b	4,62±0,026 ^a

Keterangan : Nilai-nilai pada Tabel 6 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti notasi huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($P>0,05$), setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).

Tabel 7 Konsentrasi Etanol (% v/v) Kultur setelah 12 hari Fermentasi

Konsentrasi Hidrolisat Rumput Laut % (b/v)	Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		
	0%	0,5%	1%
0	0,09±0,004 ^{de}	0,07±0,000 ^e	0,09±0,020 ^e
25	0,06±0,010 ^e	0,12±0,001 ^{cd}	0,17±0,009 ^b
50	0,14±0,004 ^{bc}	0,13±0,006 ^{bc}	0,16±0,012 ^b
95	0,09±0,016 ^{de}	0,23±0,006 ^a	0,20±0,004 ^a

Keterangan : Konsentrasi etanol yang terbentuk dinyatakan dalam %. Nilai-nilai pada Tabel 7 ± standar deviasi merupakan rata-rata dari tiga kali ulangan. Nilai-nilai yang diikuti notasi huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey ($P>0,05$), setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).

et al., 2000). Pada penelitian ini, sel khamir tidak mengalami pertumbuhan (Tabel 6), sehingga dapat disimpulkan bahwa proses yang terjadi sebagian besar pada kondisi anaerob, sehingga energi yang dihasilkan untuk tumbuh menjadi tidak mencukupi. Penurunan kandungan gula dalam medium diikuti oleh terbentuknya etanol dalam proses fermentasi ini (Tabel 6 dan Tabel 7) mengindikasikan bahwa proses berlangsung dalam suasana yang relatif anaerob.

Pengaruh Kombinasi Hidrolisat Rumput Laut dan Amonium Sulfat terhadap Kadar Etanol

Konsentrasi etanol (% v/v) yang terbentuk diukur pada hari ke-12 (Tabel 7), nilainya berkisar antara 0,06 % dan 0,23% (v/v) tergantung pada kombinasi perlakuan.

Pada media dengan konsentrasi ammonium sulfat 0,5% (v/v), kenaikan konsentrasi hidrolisat berpengaruh secara nyata ($p < 0,05$) terhadap konsentrasi etanol. Dengan kata lain, secara keseluruhan terjadi interaksi yang positif antara kadar gula dalam hidrolisat dengan kandungan N dalam media fermentasi pada proses fermentasi etanol (Tabel 7). Walaupun secara visual (Tabel 7), peningkatan kadar etanol yang terbentuk sangat kecil (kurang dari 0,2%), tetapi secara statistik nilai-nilai tersebut berbeda nyata pada $p < 0,05$.

Etanol merupakan metabolit primer yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* yang ditumbuhkan dalam suasana anaerob pada medium yang mengandung gula pereduksi (Janeiro, 2008). Dalam proses ini, secara teoritis akan dihasilkan sebanyak 2 mol etanol dari 1 mol glukosa yang difermentasi (Hambali *et al.*, 2008). Karena etanol dihasilkan selama proses pertumbuhan sel, produk ini sering disebut dengan *growth associated product* atau metabolit primer (Shuler dan Kargi, 2002). Pada penelitian ini, kadar etanol yang terbentuk berkisar antara 0,06 % sampai 0,23% (v/v) (Tabel 7) atau antara 0,47 g/L sampai 1,81 g/L. Rendemen

etanol ini jauh lebih kecil daripada yang dilaporkan oleh Suartama (2013), yaitu 22,64 g/L etanol dari produksi brem dengan *Saccharomyces cerevisiae*. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh sumber gula yang dipakai berasal dari hasil penguraian secara enzimatik, sedangkan pada penelitian ini kemungkinan terdapat residu senyawa toksik dari asam sulfat.

Dalam penelitian ini, rata-rata gula terpakai berada dalam kisaran 0,34 g/L sampai 7,61 g/L (Tabel 5 dan Tabel 6), yang jika semuanya diubah menjadi etanol, maka akan dihasilkan etanol antara 0,17 g/L dan 3,89 g/L. Hasil yang ditunjukkan pada Tabel 7 mengindikasikan bahwa hanya sebagian kecil gula diubah menjadi etanol. Ada beberapa kemungkinan yang menyebabkan fenomena ini terjadi. Kemungkinan pertama adalah khamir yang dipakai dalam penelitian ini bukan isolat homofermentatif yang kemungkinan mempunyai jalur metabolisme lain yang dapat mengubah gula menjadi senyawa organik lain selain etanol (Walker, 1999). Untuk memastikan hal ini, perlu dilakukan pengukuran kadar senyawa organik lain yang terbentuk dalam proses ini. Kemungkinan lain adalah hadirnya O_2 di dalam medium, yang walaupun kadarnya sangat kecil, dapat menurunkan kadar etanol yang terbentuk, karena sebagian gula yang tersedia akan diubah menjadi H_2O dan gas CO_2 melalui proses respirasi. Penyebab ke dua tampaknya bukan menjadi penyebab utama turunnya kadar etanol, karena konsentrasi sel justru lebih rendah pada hari ke-12 (Tabel 4).

KESIMPULAN

Rumput laut (*Glacilaria* sp.) menunjukkan potensi sebagai bahan baku alternatif dalam produksi bioetanol, walaupun kadar bioetanol maksimum yang dihasilkan masih sangat rendah (0,23% v/v) pada medium 95% (b/v) hidrolisat rumput laut yang dikombinasi dengan 0,5% (b/v) amonium sulfat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada UPT Laboratorim Biosain dan Bioteknologi Universitas Udayana yang telah menyediakan isolat *Saccharomyces cerevisiae* S14 dan fasilitas laboratorium. Selain itu, ucapan terimakasih juga ditujukan kepada Ni Wayan Nursini, MP. dan Ir. N.G.A.M.D.A. Suastuti, M.Si. atas bantuannya yang tak ternilai selama penelitian ini dikerjakan di Laboratorium Biosains dan Bioteknologi dan UPT Laboratorium Analitik Universitas Udayana. Penelitian ini dibiayai sebagian oleh Program Penelitian Hibah Bersaing, Direktorat Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan RI.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggadirejo, J., Irawati, S., dan Kusmiyati. 2006. Rumput Laut: Pembudidayaan Pengolahan dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Apriyantono, A., Dedi, F., Puspitasari, N. L., Sedarnawati., dan Slamet, B. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan. Bogor. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C). 1984. Official Methods Analysis the Association of Official Analytical Chemist. 14 ed. AOAC. Inc. Arlington. Virginia.
- Azizah, N., Baarri, A.N., dan Mulyani, S. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. 1(2): 16-21.
- Badan Pusat Statistik. 2012. Perkembangan Ekspor Dan Impor Indonesia Januari 2012. Berita Resmi Statistik No. 16/03/ Th. XV.
- Barnett, J. A., Payne, R. W. and Yarrow, D. 2000. Yeast Characteristic and Identification. Cambridge University Press. New York.
- Devis, F. H. 2008. "Bioetanol Berbahan Dasar Ampas Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*" (Skripsi). Bogor. Proram Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Prtanian Bogor.
- Dudi, H. 2001. Tinjauan Proses Pengomposan Dan Pemanfaatannya. BPPT. Tangerang.
- Hakim, K. 2007. "Pengaruh Penambahan Amonium Sulfat Terhadap Produksi Etanol pada Fermentasi Umbi singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) dengan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae*" (Skripsi). Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Hambali, E., Mujdalipah, S., Tambunan, A.H., Pattiwiri, A.W., dan Hendroko, R. 2008. Teknologi Bioenergi. Agro Media. Jakarta.
- Idral, D. D., Marniati, S., dan Elida, M. 2012. Pembuatan Bioetanol Dari Ampas Sagu dengan Proses Hidrolisis Asam dan Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Jurnal Kimia Unand. 1(1): 34-38.
- Janeiro, R. 2008. Sugarcane based bioethanol: energy for sustainable Development. 1st edition. Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social. II. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos.

- Karta, I. W. 2012. "Pembuatan Bioetanol dari Alga *Codium geppiorum* dan Pemanfaatan Batu Kapur Nusa Penida Teraktivasi untuk Meningkatkan Kualitas Bioetanol" (*Tesis*). Bali. Program Studi Kimia Terapan. Program Pascasarjana. Universitas Udayana.
- Lavarack, B.P., Griffin, G.J. and Rodman, D. 2002. Measured Kinetics Of Acid-Catalysed Hydrolysis Of Sugar Cane Bagasse To Produce Xylose. *J Catalysis Today*. 63: 257-265.
- Lynd, L. R., Weimer, P. J., Zyl, W. H van. and Pretorius, I. S. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev*. 66: 506-520.
- Rachmaniah, O., Andi, K. W. and Dedy, R. 2009. Acid Hydrolysis Pretreatment Of Bagasse-Lignocellulosic Material For Bioethanol Production. Department Of Chemical Engineering. FTI-ITS. Surabaya.
- Shuler, M. L and Kargi, F. 2002. *Bioprocess Engineering Basic Concepts*. (Edisi 2). New Jersey. Prentice Hall. p. 33-78.
- Suartama, P. O. 2013. "Produksi Etanol dari Sisa Gula Limbah Pabrik Brem" (*Skripsi*). Denpasar. Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Udayana. (tidak dipublikasikan).
- Walker, G. 1999. *Yeast Physiology and Biotechnology*. London. John Wiley and Sons Ltd. 26-219.
- Wignyanto, S., Suharjono, D., dan Novita, A. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas Dan Inokulum *Saccharomyces Cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2(1): 68-77.



9 772086 578063