



**PERGURUAN TINGGI MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN**

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

UAD Kampus 2 Unit B, Jl. Pramuka no. 5F, Pandeyan, Umbulharjo Yogyakarta 55161, Telp : 0889 0282 7604, Email : lppm@uad.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor: U12/277/IV/2023

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : Anton Yudhana, S.T., M.T., Ph.D.
Jabatan : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM)
Alamat : Jl. Pramuka No.5F, Pandeyan, Kec. Umbulharjo
Kota Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta 55161

menerangkan bahwa:

Nama : Dr. Trianik Widyaningrum, M.Si
Jabatan : Dosen Pendidikan Biologi
Alamat : Kuncen WB I/533 RT 24 RW 5 Yogyakarta

adalah benar mendapatkan Penelitian Dosen Muda Pendanaan Dikti Tahun 2010 (Sebagai Pengusul I), Penelitian Hibah Bersaing Tahun 2014 (Sebagai Pengusul I), dan Penelitian Hibah Terapan pendanaan Dikti Tahun 2017-2019 (Sebagai Pengusul I)
Daftar judul terlampir.

Demikian, Surat Keterangan ini saya buat dengan sebenarnya untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 4 April 2023

Mengetahui,
Kepala LPPM UAD,

Anton Yudhana S.T., M.T., Ph.D.
NIDN 60010383

Lampiran.

Nomor: U12/277/IV/2023

Daftar Penelitian Hibah Dikti

No	Judul Penelitian	Tahun
1.	Peningkatan Bioetanol Kulit Buah Durian Dengan Penambahan Enzim selulase dan <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (Penelitian Dosen Muda)	2010
2	Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase (Pendanaan 2 Tahun) (Penelitian Hibah Bersaing)	2014
3	Identifikasi Gen <i>Pdc</i> Dan <i>Adh</i> Dari <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, Dan Siwalan Untuk Produksi Etanol (Pendanaan 3 Tahun) (Penelitian Hibah Terapan)	2017-2019

**LAPORAN PENELITIAN
DOSEN MUDA**



**PENINGKATAN BIOETANOL KULIT BUAH DURIAN
DENGAN PENAMBAHAN ENZIM SELLULASE
DAN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Oleh:

Trianik Widyaningrum, M.Si

**DIBIYAI DIPA
NOMOR: 0437/Kop.V/A.1/III/2010
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
November 2010**

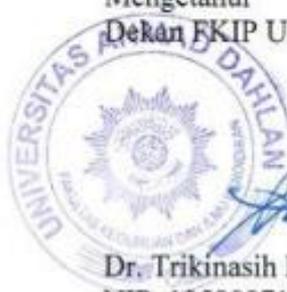
**HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN HASIL
PENELITIAN DOSEN MUDA**

1.	Judul Penelitian	PENINGKATAN BIOETANOL KULIT BUAH DURIAN DENGAN PENAMBAHAN ENZIM SELULASE DAN <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
2	Bidang ilmu penelitian :	MIPA/BIOLOGI
3	Ketua Peneliti a. Nama Lengkap b. Jenis Kelamin c. NIP/NIDN d. Pangkat/Golongan e. Jabatan f. Fakultas/Jurusan	Trianik Widyaningrum, M.Si Perempuan 0514017001 Penata/ III c Lektor FKIP/Pendidikan Biologi
4	Jumlah Tim Peneliti	1 orang
5	Lokasi Penelitian :	Lab. Biologi UAD, Lab. Teknologi Pangan UGM
6	Waktu Penelitian	8 bulan
7	Biaya	Rp. 9.150.000 (sembilan juta seratus limapuluhribu rupiah)

Yogyakarta, 20 November 2010

Peneliti

Mengetahui
Dekan FKIP UAD

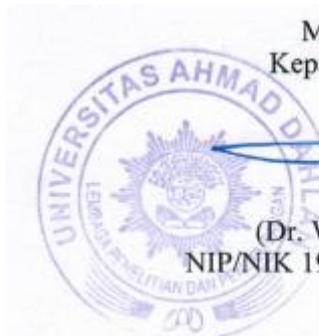



Dr. Trikinasih Handayani, M.Si
NIP. 19590971985032002



Trianik Widyaningrum, M.Si
NIDN 0514017001

Mengetahui,
Kepala LPP UAD

(Dr. Widodo, M. Si)
NIP/NIK 196002211987091001

DAFTAR ISI

	Hal.
LEMBAR PENGESAHAN	i
A.LAPORAN HASIL PENELITIAN	
RINGKASAN DAN SUMMARY.....	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	3
BAB III TUJUAN PENELITIAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	13
BAB IV METODE PENELITIAN.....	14
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	25
Lampiran-lampiran	
1. Daftar Pustaka.....	26
2. Personalia Penelitian.....	29
3. Biodata Peneliti.....	29
B.DRAF ARTIKEL ILMIAH	
C.SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN.....	11

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Kandungan Gizi Buah Durian per 100 gram.....	5
Tabel 2. Rerata Kadar bioetanol kulit Buah durian	20
Tabel 3 Rerata pH fermentasi kulit buah Durian.....	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Buah Durian.....	10
Gambar 2. Morfologi <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12
Gambar 3. Skema Glikolisis.....	14
Gambar 4. Grafik Histogram hubungan waktu fermentasi dan kadar Alkohol Hasil fermentasi Kulit Buah Durian.....	27

PENINGKATAN BIOETANOL KULIT BUAH DURIAN DENGAN PENAMBAHAN ENZIM SELULASE DAN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Oleh
Trianik Widyaningrum

RINGKASAN DAN SUMMARY

Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol kulit buah durian dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim selulose dan *Saccharomyces cerevisiae* maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa persen peningkatan kadar bioetanol kulit buah durian dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim selulose dan *Saccharomyces cerevisiae*.

Langkah Kerja pada penelitian ini meliputi persiapan alat dan bahan, pembuatan infusa kentang untuk pertumbuhan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*, pengkulturan *Saccharomyces cerevisiae*, Pembuatan filtrat substrat kulit buah durian, pemberian ragi dengan dosis 0,25 gram dan 0,50 gram serta kontrol (tanpa perlakuan), pemberian enzim selulase 10 FPU (*Filter Paper Unit*), setara dengan 0,016 g, dan inokulasi *Saccharomyces cerevisiae*, Destilasi dan Pengukuran kadar etanol dengan metode *micro conway diffusion*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa kadar bioetanol dengan menggunakan ragi sebesar 0,501% yaitu pada dosis ragi 0,50 gram, sedangkan dengan perlakuan enzim selulase mendapatkan kadar etanol sebesar 9,280%, sehingga dapat dirumuskan kesimpulan bahwa kadar bioetanol kulit buah durian dapat ditingkatkan dengan menggunakan enzim selulase dengan peningkatan sebesar 95%

Kata Kunci: bioetanol, kulit buah durian, enzim selulase, *Saccharomyces cerevisiae*.

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia berpotensi sebagai produsen bioetanol terbesar di dunia, menurut Yudiarto, (<http://www.trubus-online.com>,2008). Etanol hasil fermentasi dari ragi dapat digunakan di bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkitan tenaga, selain itu sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oli, dan lilin. Penggunaan lainnya yaitu di bidang kedokteran, laboratorium, dan keperluan rumah tangga (Narita, 2005).

Periset di Balai Besar Teknologi Pati menyebutkan bahwa ada 3 kelompok tanaman sumber bioetanol yaitu tanaman yang mengandung pati seperti gandum, tanaman yang bergula seperti tebu dan tanaman yang berselulosa seperti durian (<http://www.trubus-online.com>,2008).

Berdasarkan hasil wawancara dengan salah seorang penjual durian yang ada di Yogyakarta, selain untuk dikonsumsi, daging buah durian umumnya diolah menjadi *tempoyak*, sehingga dapat digunakan sebagai lauk pauk. Bagian biji dapat diolah menjadi tepung, keripik atau dimakan setelah direbus. Bagian kulit buah hanya dibuang dan dijadikan limbah. Berdasarkan penelitian Hatta (2006), kulit buah durian mengandung 50-60 % selulosa, lignin 5 % dan kandungan pati yang rendah sebesar 5 %. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Mawardi, A (2008) menunjukkan bahwa dari 50 ml filtrat kulit buah durian hasil fermentasi selama 6 hari menggunakan ragi tape dengan dosis 0,25 gram diperoleh kadar etanol sebesar 0,501 % ^b/_v. Kadar etanol hasil penelitian ini lebih besar jika dibandingkan dengan penelitian yang sama menggunakan substrat singkong yaitu sebesar 0,2 % ^b/_v. Kadar etanol hasil fermentasi kulit buah durian dapat dinaikkan lagi apabila dalam penelitian tersebut terlebih dahulu dilakukan perombakan selulosa

dengan menggunakan enzim selulose dan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* (Trubus, 2006).

Berdasarkan latar belakang bahwa Indonesia sebagai salah satu negara penghasil buah durian terbesar, banyaknya kandungan selulosa dalam kulit buah durian, besarnya kadar bioetanol hasil fermentasi kulit buah durian, dan manfaat dari bioetanol tersebut, maka penting kiranya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan kadar bioetanol kulit buah durian melalui penambahan enzim selulose dan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan alternatif tentang pemanfaatan limbah kulit buah durian menjadi bahan yang dapat dimanfaatkan dalam bidang industri, khususnya yang berhubungan dengan alkohol/etanol.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol kulit buah durian dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim selulose dan *Saccharomyces cerevisiae*, maka dapat dirumuskan permasalahan, berapa persen kadar bioetanol kulit buah durian dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulose dan fermentasi *Saccharomyuces cereviciae*

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

1. Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

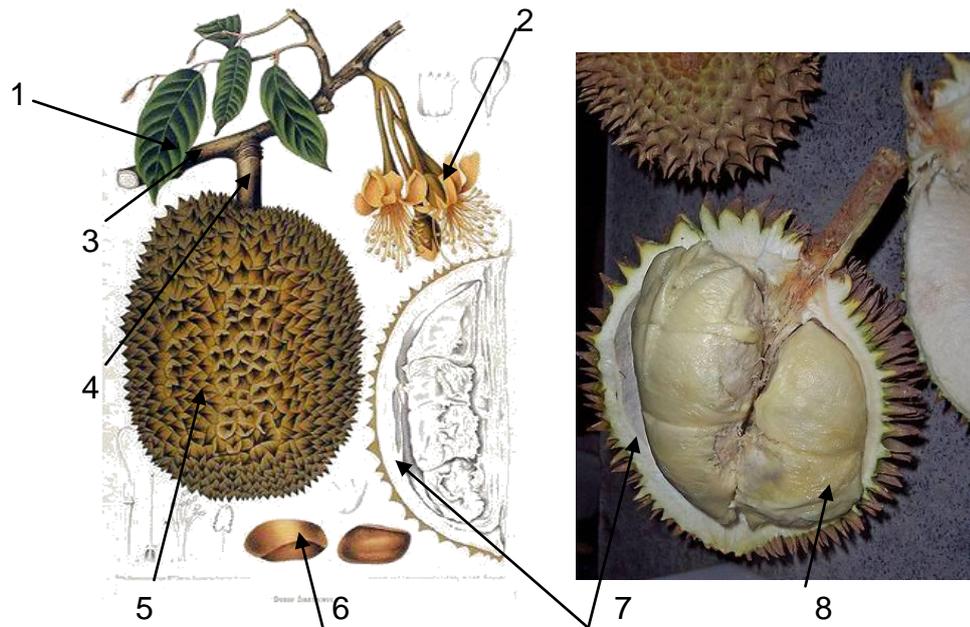
Durian pada awalnya tumbuh liar dan terpencair di hutan Malaysia, Sumatera, dan Kalimantan kemudian menyebar ke seluruh wilayah Indonesia, Thailand, India, dan Pakistan. Durian yang sudah teridentifikasi sebanyak 300 spesies dengan 31 genera dan terdapat 27 spesies berada di Indonesia (Astaman, 2003). Dibandingkan dengan spesies lainnya, *Durio zibethinus* Murr. adalah yang paling banyak karena penyebarannya tersebar secara merata di daerah tropis dan memiliki banyak kultivar antara lain durian petruk, durian sitokong, dan durian bakul (Anonim, 1997).

a. Deskripsi Tanaman

Menurut Pawaka, S (2005) durian adaptif ditanam di ketinggian 200–750 m dpl, hidup di tempat yang subur dan bertanah gembur dengan derajat keasaman (pH) sekitar 6,5-7 dan intensitas cahaya yang diperlukan adalah 45–50 % serta curah hujan yang berkisar antara 1500–3500 mm/thn.

Menurut Astaman (2003), secara morfologi buah durian ini dibagi menjadi tiga bagian utama yaitu kulit, daging buah dan biji. Pada bagian kulit luar (*perikarp*) buah durian memiliki duri-duri yang sangat tajam. Ciri buahnya, bentuknya besar bulat atau oval, lonjong, dengan kulit buah yang keras dan tebal hampir seperempat bagian dari buahnya serta berduri, daging buah yang menutupi seluruh biji berwarna putih, kuning tua atau putih kekuning-kuningan (Hatta, 2006).

Buah durian dapat ditunjukkan pada Gambar 1 sebagai berikut :



Gambar 1. Buah Durian (*D. zibethinus*)

Keterangan :

- 1) Daun
- 2) Bunga
- 3) Batang
- 4) Tangkai buah
- 5) Perikarp
- 6) Biji
- 7) Mesokarp
- 8) Daging buah

(Nooten Van, 2006)

Dari segi aromanya, Siswoputranto (1984) menyebutkan bahwa aroma daging buah durian masak disebabkan oleh belerang yang terikat pada asam butirat dan asam organik yang mudah menguap. Senyawa yang paling tajam aromanya adalah propanathiol detilthieter, disamping senyawa lain yang ikut menentukan aroma khas tersebut.

Hasil penelitian Hatta (2006) bahwa kulit durian secara proporsional mengandung unsur selulosa yang tinggi (50-60 %) dan kandungan lignin (5 %) serta kandungan pati yang rendah (5 %).

Kandungan gizi buah durian bervariasi tergantung dari jenis varietas dan ukurannya, tetapi secara umum dapat tecantum dalam Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Kandungan gizi buah durian per 100 gram

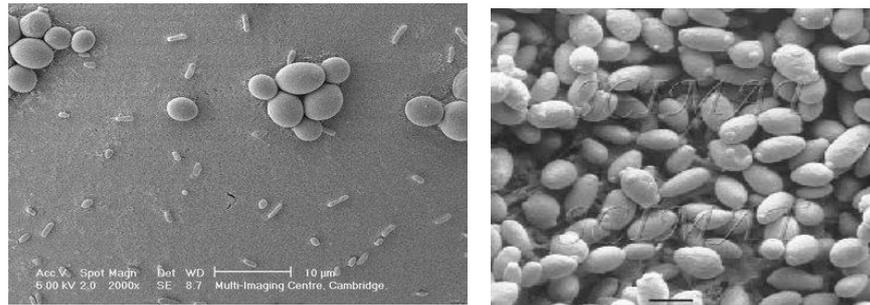
No	Nama	Jumlah	Satuan
1	Energi	156	Kcal
2	Air	62,5	Kcal
3	Protein	2,1	Kcal
4	Lemak	3,3	Kcal
5	Karbohidrat	29,6	Kcal
6	Serat kasar	1,4	Kcal
7	Abu	0,9	Kcal
8	Kalsium	29	Milligram
9	Fosfor	34	Milligram
10	Besi	1,1	Milligram
11	Vitamin	46	Microgram
12	betakarotin	8	microgram
13	Vitamin A	0,16	Milligram
14	Thianin	0,2	Milligram
15	Riboflavin	2,5	Milligram
16	Niacin	35	Milligram
	Vitamin C		

Sumber: *Nutritive values of thai foods, 1987, Departement of Health, Ministri of public Health, Thailand*

(Wiryanta, 2002)

2. *Saccharomyces cerevisiae*

Secara morfologi, *S. cerevisiae* adalah khamir eukaryotik berbentuk bulat (*coccus*) dengan ukuran 5-10 micrometer yang berkembang biak secara vegetatif (pertunasan) dan toleransi terhadap kadar etanol yang tinggi (Sardjoko, 1991). Morfologi *S. cerevisiae* sesuai Gambar 2 berikut :



Gambar 2. Morfologi *Saccharomyces cerevisiae*

(Williams, 2008)

Dalam taksonomi, *Saccharomyces cerevisiae* di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Ascomycota
Subdivisio	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycotales
Familia	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Menurut Buckle dkk (1987) bahwa *Saccharomyces cerevisiae* berperan dalam fermentasi yang bersifat etanolis dimana produk utama dari metabolisemenya adalah etanol.

Menurut Narita (2005), *S.cerevisiae* merupakan mikroorganisme aman (*Generally Regarded as Safe*) yang tidak saja digunakan dalam bidang fermentasi tradisional seperti makanan, minuman misalnya tempe, tape, dan tuak tetapi menjadi sel inang dalam pembuatan *low volume, high value* produk bioteknologi, misalnya bahan-bahan kimia, protein terapi, produk *pharmaceutical* agrikultur, biofuel, industri enzim.

a. Karakteristik *S. cerevisiae*

Adapun karakteristik penting *S.cerevisiae* apabila digunakan dalam fermentasi sebagai berikut :

- 1) mampu tumbuh dengan cepat pada suatu substrat, kondisi lingkungan yang cocok dan mudah untuk di biakkan dalam jumlah besar.
- 2) memiliki kemampuan untuk mengatur ketahanan fisiologis dan menghasilkan enzim-enzim esensial dengan mudah agar perubahan kimia yang dikehendaki dapat terjadi.
- 3) Kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan dan produksi maksimum secara komparatif sederhana.

(Desrosier, 2008)

- 4) Stabil dan dapat menghasilkan produk yang diinginkan dalam jangka waktu yang pendek.
- 5) Mampu memproduksi produk yang diinginkan tanpa menghasilkan produk yang lain yang bersifat beracun. Produk yang diinginkan dapat dengan mudah dipisahkan dari senyawa atau bahan-bahan lainnya.
- 6) Mampu disimpan untuk jangka waktu yang lama.

(Sa'id, 1987)

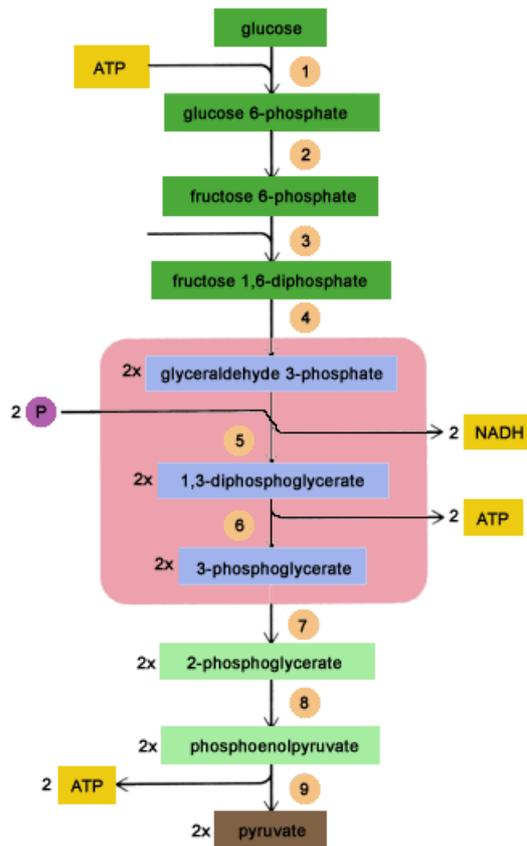
3. Fermentasi

Fermentasi adalah proses oksidasi biologi dalam keadaan fakultatif. Tidak semua organisme melakukan fermentasi untuk memperoleh sumber energi, pada organisme tingkat tinggi, untuk memperoleh energi dilakukan respirasi aerob yaitu respirasi yang menggunakan oksigen tetapi untuk mikroorganisme pada umumnya melakukan fermentasi karena tidak membutuhkan oksigen guna menghasilkan etanol (Suhartanti, 2007). Pada sel *S.cerevisiae* bila tersedia cukup oksigen, maka sel akan melakukan respirasi, sedangkan apabila tidak cukup oksigen maka akan terjadi fermentasi artinya sel *S.cerevisiae* dapat menyesuaikan hidupnya untuk dapat bertahan hidup (Sukarno dan Amin, 1996).

Etanol hasil fermentasi sering dipakai untuk menyebut etanol, atau *grain etanol* dalam kimia dapat diistilahkan dengan senyawa organik yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada atom karbon, dan berikatan pada atom hidrogen atau atom karbon lain (Anonim, 2007).

Etanol merupakan produk fermentasi dari karbohidrat (gula, pati, selulosa) yang bermanfaat dalam bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkitan tenaga, sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oli, lilin, dan di bidang kedokteran, laboratorium, serta keperluan rumah tangga (Narita, 2005).

Sebelum terjadinya proses fermentasi etanol, selulosa dan glukosa sebagai substrat yang terdapat pada kulit buah durian, terlebih dahulu akan dirubah menjadi 2 molekul piruvat dalam proses glikolisis dengan menghasilkan 2 ATP (Priyo, 2007). Glikolisis adalah proses penguraian karbohidrat atau selulosa menjadi piruvat juga disebut dengan jalur metabolisme *Embden-Meyerhoff* (Wirahadikusumah, 2002). Adapun skema proses glikolisis sesuai Gambar 3 berikut :



Gambar 3. Skema glikolisis

(Anonim, 2008)

Asam piruvat hasil glikolisis akan diubah menjadi asetaldehida oleh enzim piruvat dekarboksilase (enzim yang tidak terdapat dalam hewan) dan reaksi reduksi asetaldehid menjadi etanol (Wirahadikusumah, 2002).

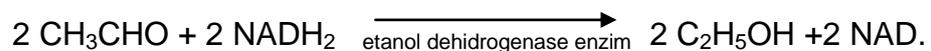
Dari uraian diatas, reaksi fermentasi etanol secara ringkas dapat ditunjukkan sebagai berikut :

1) Gula ($C_6H_{12}O_6$) \longrightarrow asam piruvat (glikolisis)

2) Dekarboksilasi asam piruvat.



3) Asetaldehid oleh etanol dihidrogenase diubah menjadi etanol



Ringkasan reaksi



(Anonim, 2000)

Adapun kelebihan dari bioetanol jika dibandingkan dengan bensin menurut Tata (2007) adalah :

- a. Bioetanol aman digunakan sebagai bahan bakar, titik nyala etanol 3 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan bensin
- b. Emisi karbon lebih sedikit

Kekurangan bioetanol jika dibandingkan bensin

- a. Mesin dingin lebih sulit melakukan starter
- b. Bioetanol bereaksi dengan logam magnesium dan aluminium

Oleh sebab itu penggunaan dari bioetanol harus digalakkan karena menurut (Rama Prihadana, 2007) akan mengurangi kecendrungan pemanasan global dan pencemaran udara karena kandungan oksigen membuat pembakaran sempurna sehingga meminimalisir gas buang kendaraan dengan kadar karbondioksida dapat ditekan hingga 19%-25%.

4. Faktor yang mempengaruhi fermentasi

Faktor keberhasilan fermentasi sangat ditentukan jenis bahan pangan (substrat). Mikroorganisme membutuhkan energi yang berasal dari karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan zat-zat gizi lainnya yang ada dalam bahan pangan tersebut. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan dalam fermentasi adalah :

c. Mikroorganisme

Mikroorganisme yang harus digunakan adalah mikroorganisme yang tergolong unggul, stabil artinya tidak berubah atau mengalami mutasi walaupun dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, dan bukan patogen artinya mikroorganisme yang digunakan tidak akan menyebabkan penyakit. Semakin besar mikroorganisme yang dibutuhkan maka semakin besar pula kadar etanol yang dihasilkan (Hidayat, 2007).

d. Suhu

Tiap-tiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan yang optimum sehingga pengaturan suhu suatu substrat merupakan suatu kendali yang positif terhadap pertumbuhannya. Untuk memperoleh hasil yang maksimum selama fermentasi, harus diciptakan kondisi suhu yang optimum bagi pertumbuhan mikroorganisme tersebut, umumnya suhu pertumbuhan untuk khamir berkisar antara 25°C-47°C (Desrosier, 2008). Menurut Sa'id, (1987) suhu yang baik untuk proses fermentasi adalah dibawah 30°C, makin rendah suhu fermentasi makin tinggi etanol yang dihasilkan.

e. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, menurut Desrosier (2008), pH optimum berkisar antara 3-7 dan akan terjadi penurunan pH yaitu menjadi asam setelah proses fermentasi karena adanya asam-asam organik sebagai hasil reaksi yang dihasilkan. Pada pembuatan anggur, Sa'id (1987) mengatakan bahwa pH optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 4,0-4,5.

f. Substrat

Mikroorganisme dalam fermentasi harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungannya, substrat dalam hal ini berarti sumber makanan bagi mikroorganisme yang terdapat dalam bahan pangan yang mengandung sakarin, selulosa, dan bahan yang berpati (Suhartanti, 2006).

g. Oksigen

Jumlah oksigen dapat mempengaruhi pola kerja dari mikroorganisme karena mikroorganisme memiliki pembagian jenis berdasarkan jumlah oksigen, ada yang bersifat aerob, anaerob, fakultatif maupun obligat sehingga apabila

mikroorganisme tidak bekerja pada jumlah oksigen yang sesuai maka hasil yang diperoleh tidak maksimal (Suhartanti, 2006).

h. Waktu fermentasi

Untuk menghasilkan kadar etanol yang optimal seperti pada pembuatan anggur, waktu yang dibutuhkan adalah 3-6 hari dalam 100 gram substrat dengan kadar etanol yang dihasilkan antara 45%-47%, karbondioksida 49% dan sisanya dirubah menjadi substansi lain (Desrosier, 2008).

i. Enzim

Mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi yang terpenting adalah kemampuan menghasilkan enzim dalam jumlah besar. Enzim adalah suatu substansi yang reaktif yang mengendalikan reaksi-reaksi kimia dalam fermentasi (Desrosier, 2008).

5. Destilasi

Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap (volatilitas) bahan. Dalam penyulingan, campuran zat dididihkan sehingga menguap, dan uap ini kemudian didinginkan kembali ke dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap lebih dulu. Metode ini termasuk unit operasi kimia jenis perpindahan massa. Penerapan proses ini didasarkan pada teori bahwa pada suatu larutan, masing-masing komponen akan menguap pada titik didihnya (Isroi, 2008).

BAB III. TUJUAN PENELITIAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol kulit buah durian dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim selulose dan *Saccharomyces cerevisiae* maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa persen peningkatan kadar bioetanol tersebut dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim selulose dan fermentasi *Saccharomyces cerevisiae*.

B. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa kulit buah durian dapat dimanfaatkan sebagai penghasil bioetanol
2. Memberikan informasi bahwa bioetanol hasil fermentasi kulit buah durian dapat ditingkatkan dengan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* dan enzim selulase

BAB IV. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

a Alat pembuatan infusa kentang

Alat yang digunakan pada pembuatan infusa kentang adalah panci infusa, pisau, kompor listrik, timbangan analitik, panci, saringan, kertas pH dan termometer.

b Alat pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

Alat yang digunakan pada pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae* adalah erlenmeyer, tabung reaksi, ose mata, lampu spiritus dan inkubator.

c Alat yang digunakan untuk pembuatan filtrat substrat kulit buah durian

Alat yang digunakan pada pembuatan filtrat substrat kulit buah durian adalah baskom, timbangan analitik, pisau *stainless*, kompor listrik, blender, pengaduk, gelas ukur, pH *universal*, kain saring, panci *stainless stell*, erlenmeyer, oven, dan autoklaf.

d Alat destilasi

Alat yang digunakan untuk proses destilasi adalah *rotary evaporator*, *waterbath*, *vaccum pump*, *watercooler*, dan labu destilat.

e Alat pengukuran kadar etanol

Alat yang digunakan dalam pengukuran kadar etanol adalah *Conway diffusion*, spektrofotometer, tabung reaksi, inkubator, vortex, sentrifuse, tabung reaksi, pipet volume, dan erlenmeyer.

2. Bahan

a Bahan pembuatan infusa kentang

Bahan yang digunakan pada pembuatan infusa kentang adalah kentang, aquades, dan HCl.

b Bahan pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

Bahan yang digunakan adalah kultur *Saccharomyces cerevisiae*.

c Bahan yang digunakan untuk pembuatan filtrat substrat kulit buah durian

Bahan yang digunakan pada pembuatan filtrat substrat kulit buah durian adalah kulit buah durian, aquades, dan air kran.

d Bahan destilasi

Bahan yang digunakan untuk proses destilasi adalah filtrat hasil fermentasi kulit buah durian, *Saccharomyces cerevisiae*, dan aquades.

e Bahan pengukuran kadar etanol

Bahan yang digunakan dalam pengukuran kadar etanol adalah Filtrat, K_2CrO_7 (asam kalium dikromat), K_2CO_3 (Kalium karbonat), Pb asetat, Na oksalat, etanol, dan aquades.

B. Langkah Kerja

1. Persiapan alat dan bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu di laboratorium sebelum penelitian dilakukan. Alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf dan oven, khusus ose dipijarkan diatas lampu spirtus (Riadi, 2007).

2. Pembuatan infusa kentang

a Dikupas kentang setelah itu ditimbang hingga mencapai 200 gram

b Dimasukkan kentang kedalam panci infusa, ditambahkan air sebanyak 1 liter dan dipanaskan diatas kompor listrik sampai mendidih pada suhu $90^{\circ}C$

c Disaring kemudian diambil ekstrak dan ditunggu sampai dingin, ditambahkan HCl untuk membuat pH ekstrak menjadi 4,5 (asam)

- d Ekstrak tersebut disterilisasi kedalam autoklaf dan disimpan sampai dingin sebagai sumber makanan bagi *Saccharomyces cerevisiae*
3. Pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*
- a Dilakukan persiapan awal meliputi penyemprotan daerah kerja dengan alkohol 70%, pembakaran bunsen, disiapkan inkubator suhu 29°C, ose mata dan infusa kentang.
 - b Diambil kultur *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 2 ose kemudian dimasukkan kedalam infusa kentang setelah itu diinkubasikan selama 6 hari
4. Pembuatan filtrat substrat kulit buah durian, pemberian ragi, pemberian enzim sellulase, dan inokulasi *Saccharomyces*
- a Dikupas kulit buah durian pada bagian perikarp yang berduri, dicuci hingga bersih.
 - b Setelah bersih, ditimbang seberat 1 kg kemudian dipotong kecil-kecil.
 - c Dimasukkan ke dalam blender, ditambahkan dengan 2 liter air dan dihancurkan sehingga dihasilkan bubur kulit buah durian.
 - d Bubur kulit buah durian dimasukkan ke dalam panci kemudian dimasak sampai mendidih sambil diaduk-aduk.
 - e Dalam keadaan panas, bubur kulit buah durian tersebut disaring dan diperas sampai semua air pada bubur keluar sehingga diperoleh filtrat.
 - f Diambil filtrat kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit untuk disterilisasi.
 - g Dalam keadaan panas, diambil 500 ml filtrat kemudian dimasukkan ke dalam 10 botol fermentasi, masing-masing botol diisi 50 ml, ditutup rapat
 - h Setelah dingin, diambil 3 botol tanpa diberi ragi NKL(Kontrol), 3 botol ditambahkan ragi NKL dengan dosis ragi 0,25 gram, 3

botol dengan dosis ragi 0,50 gram dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 2,4, dan 6 hari.

- i Diambil 1 botol berikutnya dan ditambahkan enzim selulase sebesar 10 FPU (Filter Paper Unit), setara dengan 0,016 g (Gozan, M dkk., 2007).
- j Pada Perlakuan dengan enzim selulase dibiarkan dua jam hingga terbentuk dua lapisan kemudian diaduk kembali dan dimasukkan ke dalam tabung fermentasi. Ditambahkan khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 5 gram (Surawidjaja dalam Trubus, 2007)
- k Tabung fermentasi ditutup rapat untuk mencegah kontaminasi dan diinkubasi pada suhu 29°C,
- l Setelah 4 hari terbentuk 3 lapisan yaitu lapisan terbawah merupakan protein, di atasnya air dan etanol. Disedot larutan etanol dengan selang plastik melalui kertas saring berukuran 1 mikron untuk menyaring endapan protein (Surawidjaja dalam Trubus, 2007)
- m Walaupun sudah disaring, etanol yang diambil merupakan campuran, untuk memisahkannya dilakukan destilasi atau penyulingan. Dipanaskan campuran etanol tersebut pada suhu 78°C atau setara titik didih etanol. Uap etanol dialirkan melalui pipa yang terendam air sehingga terkondensasi dan kembali menjadi etanol cair,
- n Untuk mendapatkan kadar etanol maksimal maka dilakukan destilasi lagi (Surawidjaja dalam Trubus, 2007)
- o Diukur pH masing-masing filtrat dalam botol fermentasi kemudian dicatat.
- p Setelah diinkubasi sesuai perlakuan, diukur kadar bioetanolnya dengan metode *micro conway diffusion*.

5. Destilasi

- a Disiapkan rangkaian alat destilasi meliputi *watercooler*, *rotary evaporator*, *waterbath*, dan *vaccum pump*
- b Didinginkan air kedalam *watercooler*
- c Diatur suhu *waterbath* mencapai 60°C
- d Dipasang labu filtrat yang sebelumnya sudah dimasukkan filtrat serta dipasang juga labu destilat
- e Dinyalakan *vaccum pump* dan diatur dengan tekanan 1 atm sebesar 120 mbar
- f Diputar rotavapor secara perlahan kemudian *vaccum* dinyalakan dan ditunggu sampai substrat mendidih dan terjadi kondensasi
- g Apabila sudah menetes destilat maka ditunggu selama 1 jam 30 menit untuk proses destilasi
- h Setelah itu semua peralatan dimatikan dan diambil destilat untuk diuji kadar etanol (Priyo, 2007)

6. Pengukuran kadar etanol

- a Diambil cairan destilat kemudian diencerkan menjadi 50 ml
- b Ditetaskan 1 ml kalium dikromat asam ke bagian tengah unit *micro conway*, ditambahkan 1 ml kalium karbonat jenuh ke bagian kiri unit dan 1 ml larutan standar pada bagian kanan unit yang sebelumnya pada bagian tepi unit diolesi dengan vaselin.
- c Unit ditutup dan digoyang perlahan untuk mencampur larutan alkohol dengan kalium karbonat jenuh
- d Diinkubasikan selama 2 jam pada suhu 37°C
- e Setelah diinkubasi, diambil larutan pada bagian tengah unit dengan pipet kemudian dilarutkan menjadi 10 ml
- f Diamati larutan tersebut dengan menggunakan spektrofotometer 480 nm
- g Dibuat kurva standar dengan persamaan linearnya (Wedhastri, 1992)

C. Analisis Data

Analisis yang dilakukan dalam penelitian adalah analisis teoritis terhadap data kualitatif yang ditekankan pada proses dan hasil destilasi yaitu hubungan antara kadar bioetanol cairan fermentasi dan kadar bioetanol destilat.

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

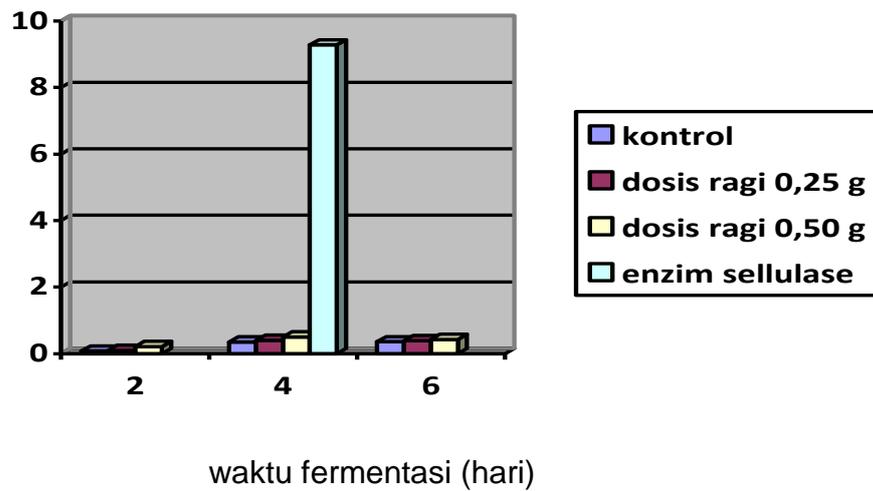
A. Hasil Penelitian

Hasil pengukuran kadar bioetanol kulit buah durian dengan metode *micro conway diffusion* menunjukkan adanya perbedaan rerata kadar bioetanol kontrol, dengan menggunakan ragi, enzim sellulase dan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* selama fermentasi yang dapat dilihat pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Rerata kadar bioetanol kulit buah durian selama fermentasi

Perlakuan	Waktu Fermentasi (hari)	Rerata Kadar etanol (%)
Kontrol	2	0.079
	4	0.349
	6	0.354
Dosis Ragi 0,25 gram	2	0.093
	4	0.399
	6	0.388
Dosis Ragi 0,50 gram	2	0.208
	4	0.501
	6	0.422
Enzim Sellulase dan Saccharomyces	4	9,280

Berdasar Tabel 2 dapat dibuat grafik histogram hubungan antara waktu fermentasi dengan kadar etanol yang dihasilkan pada perlakuan fermentasi kulit buah durian dengan menggunakan ragi dan enzim sellulase sebagai berikut,



Gambar 4. Grafik histogram hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar etanol kulit buah durian pada berbagai perlakuan

Berdasar Tabel 2 dan Gambar 4 menunjukkan adanya perbedaan kadar bioetanol yang dihasilkan antar perlakuan. Pada perlakuan dengan enzim sellulase dan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* menunjukkan kadar bioetanol tertinggi yaitu 9,280 %

Pada penelitian ini juga diukur parameter pendukung yaitu pH media selama penelitian dengan hasil sebagai berikut,

Tabel 3. Rerata pH fermentasi pada awal dan akhir proses fermentasi

Perlakuan	Waktu Fermentasi (hari)	Rerata pH awal penelitian	Rerata pH akhir penelitian
Kontrol	2	7	5
	4	7	4
	6	7	4
Dosis Ragi 0,25 g	2	7	6
	4	7	4
	6	7	4
Dosis Ragi 0,50 g	2	7	6
	4	7	4
	6	7	4
Enzim Sellulase dan <i>Saccharomyces</i>	4	7	4

Berdasar Tabel 3 terlihat bahwa rerata pH medium pada akhir penelitian menunjukkan pH yang lebih rendah.

B. Pembahasan

Kadar bioetanol hasil fermentasi diuji dengan metode *micro conway diffusion* dan diperoleh bioetanol dengan kadar yang bervariasi. Adanya bioetanol hasil fermentasi tersebut berdasarkan pendapat Narita (2005), Suhartanti (2006), dan Hidayat (2007) bahwa hasil metabolisme *S. cerevisiae* dalam ragi pada sumber makanan yang berkarbohidrat seperti gula, pati, dan selulosa adalah alkohol. Dengan adanya alkohol tersebut menandakan bahwa proses fermentasi oleh *S. cerevisiae* berlangsung dengan baik.

Pada penelitian ini Kontrol dan perlakuan dengan ragi maupun enzim dilakukan pengukuran pH. Berdasarkan hasil pengukuran pH (Tabel 3) terlihat filtrat sebelum dan sesudah perlakuan terdapat perubahan pH yang signifikan. Menurut Desrosier (2007) pH optimum untuk kehidupan *Saccharomyces* yaitu 3-7. Berdasarkan pengukuran pH tersebut menunjukkan bahwa selama proses fermentasi berlangsung maka kondisi pH semakin asam dan apabila tidak terjadi fermentasi maka kondisi pH cenderung lebih stabil. Kondisi asam yang terjadi selama proses fermentasi disebabkan oleh adanya asam-asam organik sebagai hasil reaksi dari metabolisme mikrobial (Desrosier, 2007).

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa kadar etanol pada hari ke-2 terlihat masih rendah yaitu untuk Kontrol sebesar 0.079 % untuk dosis ragi 0,25 gram sebanyak 0.093%, dan untuk dosis ragi 0,5 gram 0,208%. Pada hari kedua tersebut merupakan fase lag (adaptasi) yaitu mikrobial masih dalam keadaan menyesuaikan diri dengan lingkungannya sehingga pertumbuhan dan kadar etanol yang

dihasilkanpun sedikit (Suhartanti, 2006). Hal tersebut sesuai pendapat Jutono (1972) dan Waluyo (2004), apabila mikrobia dipindahkan pada suatu medium lengkap (kaya nutrient) ke medium minimal (sedikit nutrien) maka mikrobia tersebut akan menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya.

Pada hari ke-4 kadar etanol mengalami kenaikan menjadi 0.349 % untuk dosis ragi 0 gram, 0.399 % untuk dosis ragi 0,25 gram, 0.501 % untuk dosis ragi 0,5 gram. Pada hari keempat tersebut terlihat kadar bioetanolnya paling tinggi, terutama pada dosis 0,50 gram. Hal tersebut disebabkan karena pada hari ke-4 merupakan fase eksponensial yaitu mikrobia akan tumbuh dengan laju pertumbuhan yang sangat tinggi sehingga peningkatan jumlah sel terjadi secara eksponensial atau logaritmik (Suhartanti, 2006) dan (Yuwono, 2006). Hal tersebut juga didukung pendapat dari Desrosier (2008) dan Admin (2007) bahwa untuk menghasilkan kadar bioetanol yang optimal melalui fermentasi, waktu yang dibutuhkan berkisar 3-6 hari.

Pada perlakuan dengan menggunakan enzim selulase dan kultur murni *Saccaromyces cerevisiae*, setelah proses fermentasi selesai, yang dilanjutkan dengan destilasi menggunakan *rotary evaporator* yaitu alat yang digunakan untuk memisahkan etanol yang diinginkan menggunakan panas sebagai pemisah. Pada destilasi pertama diperoleh kadar etanol 3,66%. Destilat tersebut kemudian didestilasi ulang dan pada suhu yang sama dengan tekanan sebesar 175 dan menghasilkan kadar etanol sebesar 9,280 %. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa kadar etanol yang dihasilkan dari fermentasi substrat kulit durian dengan menggunakan enzim selulase dan kultur murni *Saccaromyces cerevisiae* hasilnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan kadar etanol yang dihasilkan dengan menggunakan ragi. Hal tersebut dikarenakan enzim selulase dapat memecah selulosa yang terdapat pada substrat kulit buah durian menjadi glukosa (Anonim, 2006, dalam Gozan, M, 2007).

Enzim merupakan protein yang bersifat katalis (biokatalis) yang memiliki kemampuan mengaktifkan senyawa lain secara spesifik dan dapat meningkatkan kecepatan reaksi (Gozan, M, 2007). Enzim dapat mempercepat reaksi kimia karena enzim bekerja dengan menurunkan energi aktivasi dari reaksi tersebut (Schuler *et al.*, 1992 dalam Gozan,M. 2007)

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dirumuskan kesimpulan bahwa kadar bioetanol kulit buah durian dapat ditingkatkan dengan menggunakan enzim sellulase dengan peningkatan sebesar 95%

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat dirumuskan saran bahwa kulit buah durian dapat dimanfaatkan sebagai sumber bioetanol dan untuk meningkatkan kadar bioetanol dari suatu substrat yang mengandung gula dapat dengan menggunakan enzim sellulase

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1997. *Budi daya Durian*. Yogyakarta: Kanisius (Anggota IKAPI).
- Anonim, 2000. *Alkohol*. <http://www.pustekkom.com/alkohol> download tanggal 27 Maret
- Anonim, 2006, <http://www.trubus-online.com,/ethanol>
- Anonim, 2007. *Alkohol*. <http://www.wikipedia.com/alkohol> download tanggal 27 Maret 2008
- Anonim, 2008. *Glycolysis cycle*. <http://www.people.eku.edu/ritchisong/RITCHISO/glycolysis.gif> download tanggal 27 Maret 2008
- Anonim, 2008, <http://www.trubus-online.com,/ethanol>
- Astaman, Made, 2003. *Durian Bukan Buah Terlarang*. Bogor: Departemen Teknologi Pangan dan Gizi IPB.
- Buckle, Edward, Fleet, Wootton, 1987. *Ilmu Pangan*. Jakarta : Universitas Indonesia Press
- Desrosier, Norman W, 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Gozan, M, Muhammad Samsuri, Fani Siti H, Bambang P, M. Nasikin. 2007. Sakarifikasi dan Fermentasi Bagas Menjadi Etanol Menggunakan Enzim Selulase dan Sellobiase. *Jurnal Teknologi*. Edisi no.3 Tahun XXI.
- Hatta, Violet, 2006. *Manfaat Kulit Durian Selezat Buahnya*. Universitas Negeri Lampung. <http://www.banjarmasinpost/Durian>. download tanggal 10 Maret 2008.
- Hidayat, Nur, 2007. *Teknologi Pertanian dan Pangan*. <http://www.worldpress.com> /fermentasi. download tanggal 23 Maret 2008
- Jutono, J., Sudarsono, S., S.Hartadi, S., Kabirun, S., Darmosuwito, Susanto, 1972. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Mawardi, A. 2008. *Variasi Dosis Ragi dan Waktu Fermentasi pada Fermentasi Alkohol Substrat Kulit Buah Durian Sebagai Sumber Belajar Biologi SMA Kelas XII Dengan Pendekatan Sains, Lingkungan, Teknologi dan Masyarakat*, Skripsi, UAD

- Narita, Vanny, 2005. *Saccharomyces cerevisiae Superjamur yang Memiliki Sejarah Luar Biasa*. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT). Jakarta. [http://www.bppt.com/Saccharomyces cerevisiae](http://www.bppt.com/Saccharomyces_cerevisiae). download tanggal 10 Maret 2008.
- Nooten Van. 2006. Chromolithograph of Durian (*Durio Zibethinus*)
- Pawaka, Soewarso, 2005. *Jago Makan Durian Jadi Raja Montong*. Majalah Flona Edisi 25/1 - Maret 2005. Jakarta.
- Priyo, 2007. *Bagaimana proses pembuatan alkohol 96% dari fermentasi tetes tebu beserta reaksi yang terjadi*. <http://www.yahooanswer.com>/alkohol download tanggal 10 Maret 2008.
- Rama Prihadana. 2007. *Bioetanol Singkong sebagai Sumber Bahan Bakar Terarukan dan Solusi Untuk Meningkatkan Penghasilan Petani Singkong*. Artikel Bioetanol.
- Riadi, Lieke, 2007. *Teknologi Fermentasi*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Sa'id, Gumbira, 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. Jakarta : PT. Melon Putra
- Sardjoko, 1991. *Bioteknologi Latar Belakangdan Beberapa Penerapannya*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama
- Surawidjaja dalam Trubus, 2007, *Mengebor Bensin di Kebun Singkong* <http://www.trubus-online.com>.
- Suhartanti, D, 2006. *Diktat Kuliah (hand out) Mikrobiologi II*
- _____, 2007. *Diktat Kuliah (hand out) Mikrobiologi I*
- Sukarno dan Amin, 1996. *Biologi*. Jakarta : Departemen Pendidikan Nasional
- Tata. 2007. *Bioetanol Sebagai Energi Alternatif Yang Terbarukan*. Artikel Biotanol
- Wirahadikusumah, Muhammad, 2002. *Biokimia Metabolisme Energi, Karbohidrat, dan Lipid*. Bendung : Penerbit ITB Bandung
- Wiryanta, Wahyu, 2002. *Bertanam Durian*. Cetakan I. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press.

Wedhastri, Sri, 1992. Fermentasi Kulit Buah Pisang untuk Produksi Alkohol oleh beberapa macam Inokulum. *Jurnal penelitian Pertanian*. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada

Williams. 2008. *Saccharomyces cerevisiae*.
<http://www.magma.ca/~scimat/yeast.htm>.

Yuwono, Triwibowo, 2005. *Fisiologi Mikrobia*. Yogyakarta : Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Personalia Penelitian

Peneliti Utama

- a. Nama Lengkap : Trianik Widyaningrum, M.Si (P)
- b. Fakultas/ Program Studi : FKIP/ Pendidikan Biologi
- c. Disiplin ilmu : Biologi
- d. Jabatan akademik : Lektor
- e. Pangkat/Golongan : Penata Muda/ IIIc
- f. Jabatan struktural : Dosen Pendidikan Biologi
- g. Waktu untuk penelitian : 8 jam/minggu

BIODATA PENELITI

I. IDENTITAS DIRI

- a. Nama Lengkap : Trianik Widyaningrum, M.Si
- b. Tempat tanggal lahir : Semarang, 14 Januari 1970
- c. Alamat Rumah : Perum Sidorejo Bumi Indah Blok L/221
- d. Email / No. Telp. : trianikwidyaningrum@yahoo.com/0816682123
- e. Fakultas/Prodi : FKIP/Pendidikan Biologi
- f. Jabatan Akademik : Lektor
- g. Pangkat/Golongan : Penata / IIIc
- h. Jabatan Struktural : Dosen Pendidikan Biologi

II. RIWAYAT PENDIDIKAN

Pendidikan	Perguruan Tinggi	Lulus (tahun)
Sarjana S1	Fakultas Biologi UGM	1994
Sarjana S2	PPS Jurusan Biologi UGM	2001

III. BIDANG KEAHLIAN/KOMPETENSI : Biologi Molekuler

IV. RIWAYAT PEKERJAAN

1997- sekarang : Dosen Pendidikan Biologi UAD

V. DAFTAR PENELITIAN

- 1 Uji Aktivitas Antibakteri Rhizoma *Curcuma zedoaria* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (2005)
2. Uji Aktivitas Anti Bakteri Dekokta Daun Bawang Putih Anggur (*Pseudocalymma aliaceum* Lamarck) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (2006)
3. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Bunga Bawang Putih Anggur (*Pseudocalymma aliaceum* Lamarck) *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (2007)
4. Manfaat Penambahan Putih Telur Ayam Kampung pada Pelet Terhadap Pertumbuhan dan Kadar Protein Ikan Nila (2008)
5. Pengaruh Konsentrasi Infusa Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap Kualitas Nata de Soya. Laporan Penelitian Dana Kopertis 2009

VI. DAFTAR PUBLIKASI

Trianik Widyaningrum, Yudhi Krisnanto (2007)

Antibacterial Activity Leaf of *Psidium guajava* L milk variety Decoct to *Escherichia coli* ATCC 35218 Makalah International Seminar on Research in Sciences, September 11th 2007. Research and development Institution.

Trianik Widyaningrum (2007)

Uji Antibakteri Dekokta Daun Bawang Putih Anggur (*Pseudocalymma aliaceum* Lamarck) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis. Naskah Jurnal Kes Mas Vol.1. No.2.Juni 2007.

Trianik Widyaningrum (2008)

Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Bawang Putih Anggur (*Pseudocalymma aliaceum* Lamarck Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis. Naskah Seminar Nasional Hasil Penelitian. LPP UAD. 9 Februari 2008

Trianik Widyaningrum (2008)

Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Bawang Putih Anggur (*Pseudocalymma aliaceum* Lamarck Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis. Naskah Naskah Jurnal Kes Mas Vol 2.No.1. Januari 2008.

Trianik Widyaningrum (2008)

Sumber Belajar Biologi: Perbandingan Pertumbuhan Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum*) pada Media Tanah Andosol, Latosol, dan Regosol. Naskah Jurnal DIDAKTIKA Volume 3. Nomor 2. Desember 2008.

Trianik Widyaningrum dan Noerbaiti Atu (2009)
Manfaat Susu Kambing Etawa Dalam Meningkatkan Kadar Hemoglobin Darah dan Jumlah Eritrosit Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. Makalah Seminar Nasional Kesehatan Lingkungan Untuk Mewujudkan Sehat Jasmani Rohani Bagi Anak Bangsa. Prodi Kesehatan Masyarakat UAD, 6 Januari 2009

Trianik Widyaningrum dan Titik Mulyani (2009)
Uji Aktivitas Antifungi Perasan Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Terhadap *Candida albicans*. Makalah Seminar Nasional Kesehatan Lingkungan Untuk Mewujudkan Sehat Jasmani Rohani Bagi Anak Bangsa. Prodi Kesehatan Masyarakat UAD, 6 Januari 2009

Trianik Widyaningrum (2009)
Manfaat Penambahan Putih Telur Ayam Kampung pada Pelet Terhadap Pertumbuhan dan Kadar Protein Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* Linne). Naskah Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA. UNY, 16 Mei 2009

Trianik Widyaningrum (2009)
Pengaruh Konsentrasi Infusa Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) terhadap Kualitas Nata de Soya. Jurnal Forum MIPA Volume VI no. 1 Desember 2009.

Yogyakarta, 20 November 2010



Trianik Widyaningrum, M.Si

113/ BIOLOGI (BIOTEKNOLOGI UMUM)

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN HIBAH BERSAING**



**PENINGKATAN BIOETANOL SARGASSUM MELALUI PENAMBAHAN
ENZIM SELULASE**

Penelitian ini Terlaksana Dengan Bantuan Dana Penelitian Hibah Bersaing
Sesuai Kontrak Nomor: 011/HB-LIT/III/2015 tanggal 25 Maret 2015

TIM PENGUSUL:

Trianik Widyaningrum, M.Si NIDN : 0514017001
Indro Prastowo, STP.M.Biotech NIDN : 0525018601

UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
November , 2015



UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Kampus I : Jl. Kapas 9, Semaki Yogyakarta 55166
Kampus II : Jl. Pramuka 42, Sidikan, Yogyakarta 55161
Kampus III : Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta 55164,
Telp.(0274) 563515, 511830, 379418, 371120, Extension Farmasi : 3107, Fax (0274) 564604

SURAT PERNYATAAN
TELAH MENYELESAIKAN SELURUH PEKERJAAN
HIBAH PENELITIAN DESENTRALISASI TAHUN 2015

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : **Trianik Widyaningrum, M.Si**
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Penelitian Hibah Bersaing (HB)
Judul Penelitian : **PENINGKATAN BIOETANOL SARGASSUM MELALUI
PENAMBAHAN ENZIM SELULASE.**

Dengan ini menyatakan bahwa, saya telah menyelesaikan seluruh pekerjaan penelitian dan telah menyusun Laporan Hasil Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 dengan judul dan skim sebagaimana tersebut di atas.

Demikian Pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 05 November 2015
Ketua Peneliti

Mengetahui
Dekan FKIP UAD



Dr. Trikinasih Handayani, M.Si
NIP. 19590971985032002

Trianik Widyaningrum, M.Si
NIY : 60960149

Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian



Dr. Widodo, M.Si
NIP : 19600221 198709 1 001

BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN (BAPP)
Nomor: BAPP-xxx/SP3.DD/XI/2015

Pada hari ini Kamis, tanggal lima bulan Nopember tahun Dua ribu lima belas (05-11-2015), kami yang bertandatangan di bawah ini:

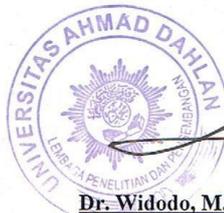
I.	N a m a	: Dr. Widodo, M.Si.
	Jabatan	: Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD).
Selanjutnya disebut PIHAK PERTAMA		
II.	Nama	: <u>Trianik Widyaningrum, M.Si</u>
	Jabatan	: Dosen/Peneliti
	Skim	: Penelitian Hibah Bersaing (HB)
	Judul Penelitian	: PENINGKATAN BIOETANOL SARGASSUM MELALUI PENAMBAHAN ENZIM SELLULASE
Selanjutnya disebut PIHAK KEDUA .		

1. Dengan ini **PIHAK KEDUA** menyatakan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang telah dtugaskan oleh **PIHAK PERTAMA** berupa Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 Nomor: 011/HB-LIT/III/2015 25 Maret 2015
2. **PIHAK PERTAMA** menerima hasil pekerjaan yang telah diselesaikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagaimana tersebut di atas.

Yogyakarta, 05 Nopember 2015

PIHAK PERTAMA,

PIHAK KEDUA,



Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 19602211987091001

Trianik Widyaningrum, M.Si
NIP : 60970160

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : PENINGKATAN KADAR BIOETANOL SARGASSUM
MELALUI PENAMBAHAN ENZIM SELLULASE

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : TRIANIK WIDYANINGRUM S.Si., M.Si.
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
NIDN : 0514017001
Jabatan Fungsional :
Program Studi : Pendidikan Biologi
Nomor HP : 0816682123
Alamat surel (e-mail) : trianaikwidyaningrum@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : INDRO PRASTOWO
NIDN : 0525018601
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 60.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 150.000.000,00

Mengetahui,
Dekan FKIP UAD



(Dr. Irikinasih Handayani, M.Si)
NIP/NIK 195909071985032002

Yogyakarta, 7 - 11 - 2015
Ketua,



(TRIANIK WIDYANINGRUM S.Si., M.Si.)
NIP/NIK 60970160

Menyetujui,
Kepala LPP UAD



(Dr. Widodo, M.Si)
NIP/NIK 196002211987091001

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	1
Halaman Pengesahan... ..	2
Daftar Isi	3
Kata Pengantar.	4
Abstrak.....	4
BAB 1 PENDAHULUAN	5
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	6
BAB III METODE PENELITIAN	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
LAMPIRAN-LAMPIRAN	36

KATA PENGANTAR



Alhamdulillahirobbilalamin. Segala puji hanya bagi Allah yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga laporan akhir penelitian yang berjudul -Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase ini dapat terselesaikan.

Dalam penulisan dan penyusunan laporan kemajuan penelitian ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dikti yang telah memberikan dana bagi penelitian Hibah bersaing ini.
2. Dr. H. Kasiyarno, M.Hum. selaku Rektor Universitas Ahmad Dahlan.
3. Dr. Trikinasih Handayani, M.Si selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Ahmad Dahlan.
4. Dr. Widodo, M.Si selaku Kepala LPP Universitas Ahmad Dahlan yang telah meluangkan waktu dalam memberikan motivasi untuk selesainya laporan kemajuan ini
5. LPP dan Jajarannya yang telah memberikan bantuan dan kerjasamanya untuk terselesaikannya laporan kemajuan penelitian ini.
6. Teknisi Lab Biologi UAD yang telah membantu kelancaran penelitian ini.
7. Masreza Prahardi, S.Pd dan Angga Dwi Prasetyo, S.Pd yang telah membantu kelancaran penelitian ini.
8. Suami dan anak-anakku yang telah memberikan motivasi hingga selesainya penelitian ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua dan semoga laporan kemajuan penelitian ini dapat berlanjut hingga selesainya penelitian hibah ini.

Yogyakarta, 10 November 2015

Penulis

PENINGKATAN BIOETANOL SARGASSUM MELALUI PENAMBAHAN ENZIM SELULASE

Trianik Widyaningrum dan Indro Prastowo
FKIP Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRAK

Indonesia berpotensi sebagai produsen bioetanol terbesar di dunia. Etanol hasil fermentasi dari ragi dapat digunakan di bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkitan tenaga, selain itu sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oli, dan lilin. Penggunaan lainnya yaitu di bidang kedokteran, laboratorium, dan keperluan rumah tangga. Periset di Balai Besar Teknologi Pati menyebutkan bahwa ada 3 kelompok tanaman sumber bioetanol yaitu tanaman yang mengandung pati seperti gandum, tanaman yang bergula seperti tebu dan tanaman yang berselulosa seperti Sargassum. *Sargassum sp.* tumbuh diperairan yang terlindung pada kedalaman 0,5 – 10 m yang ada arus dan ombak besar, pada habitat batu tumbuh melekat substat dasar perairan membentuk rumpun besar, panjang tali utama 0,5 – 3 m dengan untaian cabang tali terdapat kantong udara (*bladder*), selalu muncul diatas permukaan laut merupakan salah satu rumput laut Indonesia yang bernilai ekonomis, salah satu daerah pertumbuhannya adalah pantai Sumbawa Prajak, Bima, dan Sanggar. Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol Sargassum dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa persen peningkatan kadar bioetanol tersebut dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase.

Penelitian ini menggunakan langkah-langkah antara lain Pembuatan filtrat substrat Sargassum, dan inokulasi dengan Ragi, pengukuran Kadar Glukosa, penambahan enzim sellulase, Inokulasi *Saccharomyces*, Fermentasi, dan Pengukuran kadar etanol menggunakan metode *Gas Chromatography* (GC-14B).

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa kadar bioetanol Sargassum dapat ditingkatkan dengan menggunakan enzim sellulase 0.5 g/ml dengan kadar tertinggi pada perlakuan perendaman 0,3 M H₂SO₄, yaitu 0,255%.

Kata Kunci: Sargassum, bioetanol, enzim sellulase

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia berpotensi sebagai produsen bioetanol terbesar di dunia, menurut Yudiarto, (<http://www.trubus-online.com>,2008). Etanol hasil fermentasi dari ragi dapat digunakan di bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkitan tenaga, selain itu sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oli, dan lilin. Penggunaan lainnya yaitu di bidang kedokteran, laboratorium, dan keperluan rumah tangga (Narita, 2005).

Periset di Balai Besar Teknologi Pati menyebutkan bahwa ada 3 kelompok tanaman sumber bioetanol yaitu tanaman yang mengandung pati seperti gandum, tanaman yang bergula seperti tebu dan tanaman yang berselulosa seperti *Sargassum* (<http://www.trubus-online.com>,2008). Menurut (Burtin, 2003). *Sargassum Sp.* juga mengandung laminarin, fukoidin, dan manitol.

Sargassum Sp. adalah jenis alga coklat (*Phaeophyta*) yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae* yang mengandung serat pangan tinggi dan kaya akan asam lemak dengan 20 karbon atom seperti asam pentotenat (EPA, ω 3 C20:5) dan asam arakidonat (AA, ω 6 C20:4) (Burtin, 2003). Asam lemak esensial tidak jenuh yaitu omega-3 (EPA, ω 3C20:5) dapat mengurangi resiko penyakit hati, trombosis dan arteroklerosis (Ortiz *et al*, 2006) (Nijamuddin ,1970).

Sargassum Sp. tumbuh diperairan yang terlindung pada kedalaman 0,5 – 10 m yang ada arus dan ombak besar, pada habitat batu tumbuh melekat substat dasar perairan membentuk rumpun besar, panjang tali utama 0,5 – 3 m dengan untaian cabang tali terdapat kantong udara (*bladder*), selalu muncul diatas permukaan laut. merupakan salah satu rumput laut Indonesia yang bernilai ekonomis, salah satu daerah pertumbuhannya adalah pantai Sumbawa Prajak, Bima, dan Sanggar (Kadi dan Atmadja,1988).

Sargassum Sp. asal Bima memiliki kelebihan tersendiri dibandingkan dengan *Sargassum Sp.* dari daerah lain, menurut pedagang rumput laut dari Jawa Gema Niaga Mandiri yang juga pengumpul *Sargassum Sp.* asal Bima menyatakan bahwa bahan baku yang berasal dari Bima sangat di gemari oleh pembeli yang berasal dari Cina karena merupakan salah satu jenis *Sargassum Sp.* terbaik dengan kualitas nomor 1 (satu) di dunia, dengan tingkat Natriumnya yang sangat tinggi jika dibandingkan dengan *Sargassum Sp.* dari daerah lain.

Hasil observasi lapangan yang dilakukan oleh Tim Peneliti di Perairan Kabupaten Bima Kecamatan Langgudu Desa Karumbu pada tanggal 27 Mei 2011 dengan mewawancarai seorang petani sekaligus pengumpul dan penjual rumput laut yang bernama Pak Kamson diketahui bahwa disamping melaksanakan budidaya rumput laut petani-petani desa Karumbu juga mengambil dan mengumpulkan *Sargassum Sp. (Gose;langgudu)*. Tanaman tersebut menyebar sepanjang perairan Pusu, Wadu Roka sampai Monta terdiri atas dua jenis yang bertalus lebar dan kecil. Produksi tergantung dari besar kecilnya arus laut dengan jumlah paling banyak pada saat gelombang tenang, dipanen diatas 10 hari bulan langit pada musim bara terutama bulan Desember sampai Januari. Gose setiap bulan dapat dipanen rata rata mencapai 300 – 400 ton. Dipanen pada saat air surut dan besar kecilnya jumlah hasil panen tergantung dari cuaca perairan, pasang surut air laut dan kecepatan angin. Gose di daerah Langgudu ini memiliki siklus panen yang singkat dalam waktu 1 minggu dan yang dipetik pucuknya sekitar 30 cm, sehingga kalau cuaca memungkinkan dapat dipanen sepanjang tahun. Gose yang diambil di dalam laut, dikeringkan selama satu hari kemudian siap untuk dikirim ke Surabaya untuk di ekspor, para petani dan pengepul belum bisa menjelaskan apa manfaat dan bagaimana cara memanfaatkan Gose tersebut.

Di Perairan Kota Bima kecamatan Kolo *Sargassum sp* disebut Kahanggo. Kahanggo di Perairan Kolo tumbuh sesuai musim dengan produksi terbanyak pada musim bara sekitar bulan Juni yang mencapai + 2 ton per-orang kemudian dikirim ke pengumpul yang berasal dari kecamatan

Langgudu. Proses pemanenan Kahanggo di Kolo berbeda dengan di Karumbu, petani tidak memotong tetapi mencabut sampai akarnya (hasil wawancara dengan bapak Salahuddin petani rumput laut Kelurahan Kolo tanggal 20 Juli 2011). Oleh sebab itu dibutuhkan penanganan lebih lanjut dari berbagai pihak karena pertumbuhan Alga sangat dipengaruhi oleh musim, umur, spesies, dan lokasi geografis (Rioux et al.2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut banyaknya kandungan selulosa dalam sargassum, besarnya kadar bioetanol hasil fermentasi Sargassum, dan manfaat dari bioetanol tersebut, maka penting kiranya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan kadar bioetanol Sargassum melalui kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan alternatif tentang pemanfaatan Sargassum menjadi bahan yang dapat dimanfaatkan dalam bidang industri, khususnya yang berhubungan dengan alkohol/etanol.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol *Sargassum* dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase, maka dapat dirumuskan permasalahan, berapa persen kadar bioetanol Sargassum dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase.

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol Sargassum dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase, maka tujuan penelitian pada tahun pertama ini adalah untuk mengetahui berapa persen peningkatan kadar bioetanol tersebut dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase, sedangkan pada tahun kedua akan dilakukan pemanfaatan bioetanol tersebut sebagai bahan bakar.

Berdasarkan tujuan penelitian tersebut diharapkan hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk pembuatan Artikel tentang Bioetanol dengan bahan Sargassum dan selanjutnya diharapkan dapat diusulkan untuk dipatenkan

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penelitian yang Relevan

Sari, Ahyar Ahmad, Hanapi Usman (2011) yang meneliti tentang Produksi Bioetanol dari Selulosa Alga Merah dengan Sistem Fermentasi Simultan menggunakan Bakteri *Clostridium acetobutylicum* dengan kesimpulan bahwa kondisi optimum fermentasi terdapat pada pH 6 dan waktu fermentasi 10 hari dengan nilai konversi selulose algae merah adalah 1 kilogram *Gracillaria verrucosa* menghasilkan 21,55% bioetanol dengan kemurnian 17,04%

2. Saputra, Ali Ridho, Ita Widowati (2012) yang meneliti tentang Kajian Rumput laut *Sargassum duplicatum* J.G Agardh sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi dengan kesimpulan bahwa kondisi terbaik hidrolisis dikonsentrasi H_2SO_4 0,4 M (28,051 mg/ml) dan waktu 120 menit (23,128 mg/ml. Selama proses fermentasi kadar bioetanol maksimum dicapai pada waktu inkubasi 72 jam, yaitu 0,04515v/v

Berdasarkan penelitian yang relevan tersebut menunjukkan bahwa alga berpotensi sebagai penghasil bioetanol dengan fermentasi menggunakan ragi. Hal yang baru dari penelitian ini yaitu bahwa pada tahun ;pertama akan dilakukan penghasilan bioetanol dari *Sargassum* dengan memanfaatkan enzim selulase, kemudian pada penelitian tahun berikutnya akan diupayakan pemanfaatan bioetanol tersebut sebagai sumber energi.

Berikut sedikit gambaran dari *Sargassum*

1. *Sargassum*

a. Karakteristik

Adapun karakteristik dari *sargassum* yaitu bentuk talus seperti pohon dengan bentuk utama pipih, mempunyai bagian seperti daun di sisi samping, kantong udara berbenyuk bulat, reseptakel mempunyai modifikasi cabang yang berbentuk bulat, konseptakel terdapat di ujung cabang-cabang, hidup di daerah litoral dan sublitoral, hidup melayang di

air atau melekat pada substrat. Sargassum yang hidup melayang tidak dapat bereproduksi secara seksual tetapi dapat melakukan fragmentasi (Erna, 2011). Pada Saat reproduksi alga ini memiliki stadia gamet atau zoospora berbulu cambuk seksual dan aseksual, mempunyai pigmen khlorofil a dan c, beta karoten, Violasantin dan Fukosantin dengan persediaan makanan hasil fotosintesis berupa laminaran (Beta, 1-3 ikatan glukuan). Pada bagian dalam dinding selnya terdapat asam alginik dan alginat. mengandung pirenoid dan tilakoid (lembaran fotosintesis) Ukuran dan bentuk thalli beragam dari yang berukuran kecil sebagai epifit, sampai yang berukuran besar, bercabang banyak, berbentuk pita atau lembaran, cabang ada yang sederhana dan ada pula yang tidak bercabang (Anonim, 2009).

Salah satu spesies Sargassum yang berpotensi dan berada pada perairan di Kabupaten dan Kota Bima yaitu jenis *Sargassum polycystum* seperti pada Gambar 1 di bawah ini :



Gambar 1. *Sargassum polycystum*

b. Klasifikasi

Algae Sargassum merupakan salah satu dari jenis ganggang coklat pada kelas Phaeophyceae. Ada 150 jenis marga Sargassum yang dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin (Nizamuddin,1970).

Di perairan Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis

algae *Sargassum* dan yang telah dikenal mencapai 12 jenis. Sedangkan di perairan Indo-Pasifik tercatat 58 jenis (BOSSE 1928). *Sargassum* di berbagai daerah di Indonesia mempunyai sebutan nama yang berbeda-beda di NTB khususnya di Bima dinamakan Gose. Algae *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun karena bersifat perenial atau setiap musim barat maupun timur dapat dijumpai di berbagai perairan. Berdasarkan Klasifikasi Menurut Abbot (1978) yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Phaeophyta
Classis	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Familia	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Species	: <i>Sargassum</i>

(Anonim, 2009)

c. Habitus

Lingkungan tempat tumbuh algae *Sargassum* terutama di daerah perairan yang jernih yang mempunyai substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik dan benda-benda yang bersifat *massive* yang berada di dasar perairan (Anonim, 2010). Algae *Sargassum* tumbuh dari daerah intertidal, subtidal sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus deras. Kedalaman untuk pertumbuhan dari 0,5 – 10 m dan tumbuh subur pada daerah tropis dengan suhu perairan 27,25 – 29,30 °C dan salinitas 32–33,5 %. Kebutuhan intensitas cahaya matahari marga *Sargassum* lebih tinggi dari pada marga algae merah. Boney (1965) menyatakan pertumbuhan *Sargassum* membutuhkan intensitas cahaya matahari berkisar 6500 – 7500 lux. Algae *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang. Panjang thalli utama mencapai 1 – 3 m dan tiap-tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut Bladder berguna untuk menopang cabang-cabang thalli terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari

d. Sebaran

1) Daerah pantai (*beach/tide pool area*)

Pada di daerah pantai yang berpasir, jarang ditemukan adanya *Sargassum* kecuali pantai yang berbatu dikarenakan tempat hidup yang ideal dari *Sargassum* adalah bebatuan didalam air laut terutama jenis *Sargassum Polycystrum*.

2) Paparan terumbu (*reef flats*)

Daerah paparan terumbu merupakan bagian habitat algae *Sargassum*. Pada substrat paparan yang berbatu karang merupakan tempat untuk melekatkan thalli selama pertumbuhan berlangsung dan sebagai tempat melekat perkecambahan spora. Paparan terumbu yang berasal dari batuan vulkanik dan batu karang boulder sering dijumpai lekukan dan parit (*moat*) daerah ini berombak besar dan arus deras. Pertumbuhan *Sargassum* kebanyakan dari jenis *Sargassum binderi* dan *Sargassum duplicatum*, biasanya kerangka thalli sangat kuat, thalli utama berbentuk gepeng, permukaan halus dan licin. Secara umum bahwa pertumbuhan algae *Sargassum* yang dominan didaerah paparan terumbu adalah jenis *Sargassum polycystum*, *Sargassum echinocarpum* dan *Sargassum crassifolium*.

3) Punggung terumbu (*ridge*)

Di perairan pantai di Indonesia punggung terumbu kadang-kadang ada yang berpunggung terumbu dan tidak berpunggung terumbu. Punggung terumbu ini terbentuk dari algae kalkareous dari marga *Porolithon* atau terbentuk dari bongkahan karang yang telah mati. Daerah sekitar dinding punggung terumbu ini merupakan tempat tumbuh algae *Sargassum*, banyak dijumpai dari jenis *Sargassum polycystum* dan *Sargassum echinocarpum*. Pada waktu surut rendah rumpunan *Sargassum* mengalami perebahan dan saling bertumpang tindih dengan rumput laut jenis lainnya.

4) Tubir (*reef slope*)

Daerah tubir merupakan tempat tumbuh algae *Sargassum* dari jenis yang berthalli panjang 1 – 3 m. Pertumbuhan berasosiasi dengan karang hidup dan bonggol thalli (*holdfast*) menempel pada bagian karang yang telah mati dan lapuk. Pola pertumbuhan algae *Sargassum* di daerah tubir thalli dalam rumpun yang besar secara -Heliocentris|| tertuju ke arah permukaan untuk mendapatkan sinar matahari yang lebih banyak. Pada waktu air surut keberadaan *Sargassum* di daerah tubir dapat diketahui dengan melihat gerombolan cabang thalli yang terapung di atas permukaan air. Kemampuan daya apung ini didukung oleh kantong gelembung udara yang terletak diketiak percabangan thalli utama. Pada umumnya algae *Sargassum* tumbuh di daerah tubir mempunyai karakteristik thalli utama sangat kuat, bentuk pipih dan daun licin halus berlendir. Jenis yang tumbuh di daerah tubir meliputi *Sargassum binderi*, *Sargassum cinereum*, *Sargassum plagyophyllum* dan *Sargassum crassifolium*.

5) Goba (*lagoon*)

Daerah Goba merupakan tempat hidup dari semua jenis makro algae yang kebanyakan tumbuh di bibir goba terutama karang mati yang telah lapuk. Makro algae banyak yang berasosiasi dengan karang hidup, lamun dan biota lainnya. Perairan goba juga merupakan daerah interaksi dalam siklus rantai antar flora dan fauna yang hidup bersama baik sebagai -produser|| maupun -predator||. Marga *Sargassum* termasuk rumpun yang paling besar diantara marga rumput laut, sehingga keberadaan dalam perairan goba merupakan tempat asuhan dan berlindung biota kecil, karena arus dan ombak relatif tenang. Di daerah goba pertumbuhan makro algae reproduksinya melalui spora. Algae *Sargassum* yang tumbuh dominan diperairan ini meliputi *Sargassum polycystum*, *Sargassum echinocarpum*, *Sargassum molleri* dan *Sargassum gracilimum*.

e. Kandungan kimia

Kandungan bahan kimia utama sebagai sumber alginat dan mengandung protein, vitamin C, tannin, iodine, phenol sebagai obat gondok, anti bakteri dan tumor (Trono & Ganzon, 1988).

Alginat merupakan molekul linier dengan berat molekul tinggi, sehingga mudah sekali menyerap air. Oleh karena itu, alginat baik sekali fungsinya sebagai bahan pengental. Secara kimia, alginat merupakan polimer murni dari asam uronat yang tersusun dalam bentuk rantai linier yang panjang (Winarno 2008). Bobot molekul alginat bervariasi, tergantung dari jenis alginat, sumber bahan baku yang digunakan dan cara penyiapan bahan baku. Bobot molekul alginat berkisar antara 350.000-1.500.000, sedangkan alginat yang diperdagangkan berkisar antara 22.000-200.000 dengan tingkat polimerisasi 180-930. Adapun komposisi kimia *Sargassum* sp. berdasarkan hasil penelitian Luhur (2006) dapat dilihat pada Tabel 1 berikut :

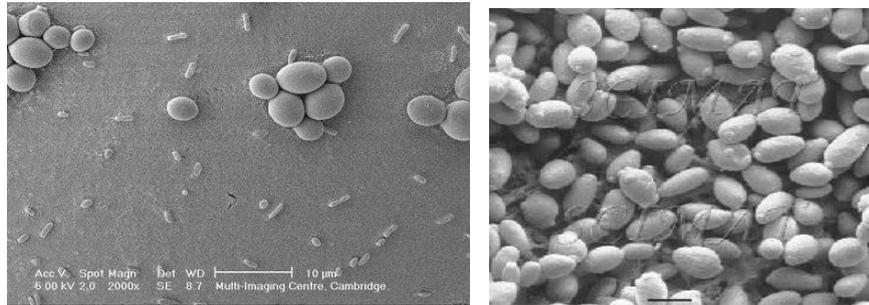
Tabel 1. Komposisi Sargassum

No	Komposisi kimia	Persentase (%)
1	Karbohidrat	19,06
2	Protein	5,53
3	Lemak	0,74
4	Air	11,71
5	Abu	34,57
6	Serat kasar	28,39

Sumber : Roswien (1991) diacu dalam Luhur (2006)

2. *Saccharomyces cerevisiae*

Secara morfologi, *S. cerevisiae* adalah khamir eukaryotik berbentuk bulat (*coccus*) dengan ukuran 5-10 micrometer yang berkembang biak secara vegetatif (pertunasan) dan toleransi terhadap kadar etanol yang tinggi (Sardjoko, 1991). Morfologi *S. cerevisiae* sesuai Gambar 2 berikut :



Gambar 2. Morfologi *Saccharomyces cerevisiae*

(Williams, 2008)

Dalam taksonomi, *Saccharomyces cerevisiae* di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Ascomycota
Subdivisio	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycotales
Familia	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Menurut Buckle dkk (1987) bahwa *Saccharomyces cerevisiae* berperan dalam fermentasi yang bersifat etanolis dimana produk utama dari metabolismenya adalah etanol.

Menurut Narita (2005), *S.cerevisiae* merupakan mikroorganisme aman (*Generally Regarded as Safe*) yang tidak saja digunakan dalam bidang fermentasi tradisional seperti makanan, minuman misalnya tempe, tape, dan tuak tetapi menjadi sel inang dalam pembuatan *low volume, high value* produk bioteknologi, misalnya bahan-bahan kimia, protein terapi, produk *pharmaceutical* agrikultur, biofuel, industri enzim.

a. Karakteristik *S. cerevisiae*

Adapun karakteristik penting *S.cerevisiae* apabila digunakan dalam fermentasi sebagai berikut :

- 1) mampu tumbuh dengan cepat pada suatu substrat, kondisi lingkungan yang cocok dan mudah untuk di biakkan dalam jumlah besar.
- 2) memiliki kemampuan untuk mengatur ketahanan fisiologis dan menghasilkan enzim-enzim esensial dengan mudah agar perubahan kimia yang dikehendaki dapat terjadi.
- 3) Kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan dan produksi maksimum secara komparatif sederhana.

(Desrosier, 2008)

- 4) Stabil dan dapat menghasilkan produk yang diinginkan dalam jangka waktu yang pendek.
- 5) Mampu memproduksi produk yang diinginkan tanpa menghasilkan produk yang lain yang bersifat beracun. Produk yang diinginkan dapat dengan mudah dipisahkan dari senyawa atau bahan-bahan lainnya.
- 6) Mampu disimpan untuk jangka waktu yang lama. (Sa'id, 1987)

3. Fermentasi

Fermentasi adalah proses oksidasi biologi dalam keadaan fakultatif. Tidak semua organisme melakukan fermentasi untuk memperoleh sumber energi, pada organisme tingkat tinggi, untuk memperoleh energi dilakukan respirasi aerob yaitu respirasi yang menggunakan oksigen tetapi untuk mikroorganisme pada umumnya melakukan fermentasi karena tidak membutuhkan oksigen guna menghasilkan etanol (Suhartanti, 2007). Pada sel *S.cerevisiae* bila tersedia cukup oksigen, maka sel akan melakukan respirasi, sedangkan apabila tidak cukup oksigen maka akan terjadi fermentasi artinya sel *S.cerevisiae* dapat menyesuaikan hidupnya untuk dapat bertahan hidup (Sukarno dan Amin, 1996).

Etanol hasil fermentasi sering dipakai untuk menyebut etanol, atau *grain etanol* dalam kimia dapat diistilahkan dengan senyawa organik yang

memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada atom karbon, dan berikatan pada atom hidrogen atau atom karbon lain (Anonim, 2007).

Etanol merupakan produk fermentasi dari karbohidrat (gula, pati, selulosa) yang bermanfaat dalam bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkitan tenaga, sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oli, lilin, dan di bidang kedokteran, laboratorium, serta keperluan rumah tangga (Narita, 2005).

Sebelum terjadinya proses fermentasi etanol, selulosa dan glukosa sebagai substrat yang terdapat pada Sargassum, terlebih dahulu akan dirubah menjadi 2 molekul piruvat dalam proses glikolisis dengan menghasilkan 2 ATP (Priyo, 2007). Glikolisis adalah proses penguraian karbohidrat atau selulosa menjadi piruvat juga disebut dengan jalur metabolisme *Embden-Meyerhoff* (Wirahadikusumah, 2002).

Asam piruvat hasil glikolisis akan diubah menjadi asetaldehida oleh enzim piruvat dekarboksilase (enzim yang tidak terdapat dalam hewan) dan reaksi reduksi asetaldehid menjadi etanol (Wirahadikusumah, 2002). Dari uraian diatas, reaksi fermentasi etanol secara ringkas dapat ditunjukkan sebagai berikut :

- 1) Gula ($C_6H_{12}O_6$) —————> asam piruvat (glikolisis)
- 2) Dekarboksilasi asam piruvat.



- 3) Asetaldehid oleh etanol dihidrogenase diubah menjadi etanol



Ringkasan reaksi



(Anonim, 2000)

Adapun kelebihan dari bioetanol jika dibandingkan dengan bensin menurut Tata (2007) adalah :

- a. Bioetanol aman digunakan sebagai bahan bakar, titik nyala etanol 3 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan bensin
- b. Emisi karbon lebih sedikit

Kekurangan bioetanol jika dibandingkan bensin

- a. Mesin dingin lebih sulit melakukan starter
- b. Bioetanol bereaksi dengan logam magnesium dan aluminium

Oleh sebab itu penggunaan dari bioetanol harus digalakkan karena menurut (Rama Prihadana, 2007) akan mengurangi kecenderungan pemanasan global dan pencemaran udara karena kandungan oksigen membuat pembakaran sempurna sehingga meminimalisir gas buang kendaraan dengan kadar karbondioksida dapat ditekan hingga 19%-25%.

4. Faktor yang mempengaruhi fermentasi

Faktor keberhasilan fermentasi sangat ditentukan jenis bahan pangan (substrat). Mikroorganisme membutuhkan energi yang berasal dari karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan zat-zat gizi lainnya yang ada dalam bahan pangan tersebut. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan dalam fermentasi adalah :

- c. Mikroorganisme

Mikroorganisme yang harus digunakan adalah mikroorganisme yang tergolong unggul, stabil artinya tidak berubah atau mengalami mutasi walaupun dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, dan bukan patogen artinya mikroorganisme yang digunakan tidak akan menyebabkan penyakit. Semakin besar mikroorganisme yang dibutuhkan maka semakin besar pula kadar etanol yang dihasilkan (Hidayat, 2007).

- d. Suhu

Tiap-tiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan yang optimum sehingga pengaturan suhu suatu substrat merupakan suatu kendali yang positif terhadap pertumbuhannya. Untuk memperoleh hasil yang maksimum selama fermentasi, harus diciptakan kondisi suhu yang optimum bagi pertumbuhan mikroorganisme tersebut, umumnya suhu pertumbuhan untuk khamir berkisar antara 25°C-47°C (Desrosier, 2008). Menurut Sa'id, (1987) suhu yang baik untuk proses

fermentasi adalah dibawah 30°C, makin rendah suhu fermentasi makin tinggi etanol yang dihasilkan.

e. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, menurut Desrosier (2008), pH optimum berkisar antara 3-7 dan akan terjadi penurunan pH yaitu menjadi asam setelah proses fermentasi karena adanya asam-asam organik sebagai hasil reaksi yang dihasilkan. Pada pembuatan anggur, Sa'id (1987) mengatakan bahwa pH optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 4,0-4,5.

f. Substrat

Mikroorganisme dalam fermentasi harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungannya, substrat dalam hal ini berarti sumber makanan bagi mikroorganisme yang terdapat dalam bahan pangan yang mengandung sakarin, selulosa, dan bahan yang berpati (Suhartanti, 2006).

g. Oksigen

Jumlah oksigen dapat mempengaruhi pola kerja dari mikroorganisme karena mikroorganisme memiliki pembagian jenis berdasarkan jumlah oksigen, ada yang bersifat aerob, anaerob, fakultatif maupun obligat sehingga apabila mikroorganisme tidak bekerja pada jumlah oksigen yang sesuai maka hasil yang diperoleh tidak maksimal (Suhartanti, 2006).

h. Waktu fermentasi

Untuk menghasilkan kadar etanol yang optimal seperti pada pembuatan anggur, waktu yang dibutuhkan adalah 3-6 hari dalam 100 gram substrat dengan kadar etanol yang dihasilkan antara 45%-47%, karbondioksida 49% dan sisanya dirubah menjadi substansi lain (Desrosier, 2008).

BAB III. METODE PENELITIAN

Tahun Pertama: Pembuatan Bioetanol dari Sargassum dengan memanfaatkan enzim selulase dan kultur murni *Saccharomyces*

A. Alat dan Bahan

1. Alat

a Alat pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

Alat yang digunakan pada pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae* adalah, tabung reaksi, ose mata, lampu spiritus dan inkubator.

b Alat yang digunakan untuk pembuatan filtrat substrat Sargassum

Alat yang digunakan pada pembuatan filtrat substrat Sargassum adalah baskom, timbangan analitik, pisau *stainless*, kompor listrik, blender, pengaduk, gelas ukur, pH *universal*, kain saring, panci *stainless steel*, erlenmeyer, oven, dan autoklaf.

c Alat pengukuran kadar Gula reduksi

Tabung reaksi, vorteks, spektrofotometer UV-VIS

d. Alat pengukuran kadar etanol

Alat yang digunakan dalam pengukuran kadar etanol adalah *Gas Chromatography* (GC-14B) Shimadzu FID, kolom *Porapak Q* (80%;170 oC). Detektor (*FID/ hydrogen flame ionization detector*) alat Chromatopac C-R6A (Shimadzu) (Febriani, dkk, 2014).

2. Bahan

a Bahan penumbuhan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

b Bahan pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

Bahan yang digunakan adalah kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*.

c Bahan yang digunakan untuk pembuatan filtrat substrat Sargassum

Bahan yang digunakan pada pembuatan filtrat substrat Sargassum adalah Sargassum dan aquades

d Bahan Pengukuran Kadar Gula reduksi

reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*).

e Bahan pengukuran kadar etanol

Bahan yang digunakan dalam pengukuran kadar etanol adalah gas pembakar H₂ 100 kpa dan gas pembawa N₂ 300 kpa.

B. Langkah Kerja

1. Persiapan alat dan bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu di laboratorium sebelum penelitian dilakukan. Alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf dan oven, khusus ose dipijarkan diatas lampu spirtus (Riadi, 2007).

2. Pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

a Dilakukan persiapan awal meliputi penyemprotan daerah kerja dengan alkohol 70%, pembakaran bunsen, disiapkan inkubator suhu 29°C, ose mata dan infusa kentang.

b Diambil kultur *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 2 ose kemudian dimasukkan ke dalam Medium PDA setelah itu diinkubasikan selama 7 hari

3. Pembuatan filtrat substrat Sargassum, perlakuan dengan H₂SO₄ untuk mendapatkan kandungan glukosa yang tertinggi

a Sargassum dicuci hingga bersih dan dicacah sampai berukuran kecil-kecil.

b. *Sargassum* ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan kedalam erlenmeyer yang telah berisi 100 ml larutan H₂SO₄ dengan konsentrasi 0 M (Aquadest); M; 0,1 M; 0,2 M; 0,3 M; 0,4 M; 0,5 M. dan 0,6 M Setiap konsentrasi dibuat 3 kali pengulangan. Erlenmeyer dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C. Setelah selesai, sampel didinginkan sampai suhunya sama dengan suhu ruangan,

kemudian sampel disaring dan dilakukan analisa kadar gula reduksi dengan metode Miller (1959) (Febriani, dkk, 2014).

c. Pengukuran Gula Reduksi

Larutan hasil hidrolisis dianalisa kadar gula reduksinya dengan menambahkan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*). Sampel hasil hidrolisis diambil sebanyak 250 µl kemudian ditambahkan 500 µl reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian divortex. Larutan yang telah homogen ditutup menggunakan kelereng, kemudian ditempatkan pada pemanas air suhu 100°C selama 5 menit, setelah itu larutan didinginkan dan ditambahkan aquadest sebanyak 5000 µl dan kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Penambahan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) bertujuan untuk membentuk asam 3-amno-5-nitrosilicylic yang menyerap cahaya kuat pada saat pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 540 nm (Miller, 1959). (Febriani, dkk, 2014).

d. Penyiapan Inokulum Yeast

Isolat yeast diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM diremajakan dengan cara memindahkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang berada di cawan petri dan diinkubasi selama 48 jam. Untuk mengetahui pertumbuhan yeast, dibuat kurva pertumbuhan dengan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) dengan komposisi : 100 ml ekstrak kentang dengan menambahkan 2 gram dextrose, inkubasi selama 24 jam, kemudian diukur kepadatan sel menggunakan *spektrofotometer* dengan panjang gelombang 600 nm. Suspensi yeast diinokulasikan sebanyak 10 % ke dalam media fermentasi.

e. Fermentasi

Proses fermentasi Filtrat Sargassum Sebanyak sembilan puluh mililiter larutan hasil hidrolisis (pH 4,5) dimasukkan dalam botol fermentasi,

seratus mililiter aquadest disiapkan dalam botol yang berbeda, kemudian sampel dimasukkan kedalam *Autoclave*, *Autoclave* digunakan untuk sterilisasi larutan pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya, larutan dipindahkan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) untuk diinokulasi yeast. 10% inokulan yeast *S. Cerevisiae* dimasukkan dalam botol yang berisi hasil hidrolisis. Inkubasi dilakukan diatas magnetik strirer. Fermentasi selama 48 jam (2 hari), 96 jam (4 hari), 192 jam (6 hari).

f. Pengukuran Kadar Bioetanol

Pengukuran kadar bioetanol dilakukan menggunakan *Gas Chromatography* (GC-14B) Shimadzu FID system. GC dioperasikan pada tekanan udara 100 kpa, gas pembakar H₂ 100 kpa dan gas pembawa N₂ 300 kpa. Untuk memulai pengukuran, setiap 1 µl standart atau sampel diinjeksikan pada injektor suhu 170 °C, yang dilengkapi kolom *Porapak Q* (80%;170 °C). Detektor (*FID/ hydrogen flame ionization detector*) dipasang pada suhu 170 oC. Hasilnya dicatat pada alat Chromatopac C-R6A (Shimadzu) (Febriani, dkk, 2014).

4. Pembuatan filtrat substrat Sargassum, perlakuan dengan H₂SO₄ terbaik dengan penambahan enzim cellulase 0.5 g/ml untuk mendapatkan kandungan glukosa yang tertinggi

- a. Sargassum dicuci hingga bersih dan dicacah sampai berukuran kecil-kecil.
- b. *Sargassum* ditimbang sebanyak 10 gram, dimasukkan kedalam erlenmeyer yang telah berisi 100 ml larutan H₂SO₄ dengan konsentrasi 0 M (Aquadest); 0,3 M. Setiap konsentrasi dibuat 3 kali pengulangan. Erlenmeyer dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C. Setelah selesai, sampel didinginkan sampai suhunya sama dengan suhu ruangan, kemudian sampel disaring dan dilakukan analisa kadar gula reduksi dengan metode Miller (1959) (Febriani, dkk, 2014).

c. Pengukuran Gula Reduksi

Larutan hasil hidrolisis dianalisa kadar gula reduksinya dengan menambahkan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*). Sampel hasil hidrolisis diambil sebanyak 250 µl kemudian ditambahkan 500 µl reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian divortex. Larutan yang telah homogen ditutup menggunakan kelereng, kemudian ditempatkan pada pemanas air suhu 100°C selama 5 menit, setelah itu larutan didinginkan dan ditambahkan aquadest sebanyak 5000 µl dan kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Penambahan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) bertujuan untuk membentuk asam 3-amno-5-nitrosilicylic yang menyerap cahaya kuat pada saat pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 540 nm (Miller, 1959). (Febriani, dkk, 2014).

d. Penyiapan Inokulum Yeast

Isolat yeast diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM diremajakan dengan cara memindahkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang berada di cawan petri dan diinkubasi selama 48 jam. Untuk mengetahui pertumbuhan yeast, dibuat kurva pertumbuhan dengan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) dengan komposisi : 100 ml ekstrak kentang dengan menambahkan 2 gram dextrose, inkubasi selama 24 jam, kemudian diukur kepadatan sel menggunakan *spektrofotometer* dengan panjang gelombang 600 nm. Suspensi yeast diinokulasikan sebanyak 10 % ke dalam media fermentasi.

e. Fermentasi

Proses fermentasi Filtrat Sargassum Sebanyak sembilan puluh mililiter larutan hasil hidrolisis (pH 4,5) dimasukkan dalam botol fermentasi, seratus mililiter aquadest disiapkan dalam botol yang berbeda, kemudian sampel dimasukkan kedalam *Autoclave*, *Autoclave* digunakan

untuk sterilisasi larutan pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya, larutan dipindahkan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) untuk diinokulasi yeast. 10% inokulan yeast *S. Cerevisiae* dimasukkan dalam botol yang berisi hasil hidrolisis. Inkubasi dilakukan diatas magnetik strirer. Fermentasi selama 48 jam (2 hari), 96 jam (4 hari), 192 jam (6 hari).

f. Pengukuran Kadar Bioetanol

Pengukuran kadar bioetanol dilakukan menggunakan *Gas Chromatography* (GC-14B) Shimadzu FID system. GC dioperasikan pada tekanan udara 100 kpa, gas pembakar H₂ 100 kpa dan gas pembawa N₂ 300 kpa. Untuk memulai pengukuran, setiap 1 µl standart atau sampel diinjeksikan pada injektor suhu 170 °C, yang dilengkapi kolom *Porapak Q* (80%;170 °C). Detektor (*FID/ hydrogen flame ionization detector*) dipasang pada suhu 170 oC. Hasilnya dicatat pada alat Chromatopac C-R6A (Shimadzu) (Febriani, dkk, 2014).

5. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) Versi 18.0. Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis *General linear model* (GLM) *Repeated measures* dan analisis ragam (Anova) pada taraf kepercayaan 95 persen (P<0,05). Jika hasil analisis ragam berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kepercayaan 95%.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Penyiapan dan Peremajaan Kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*

Berikut adalah gambar Peremajaan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* pada medium PDA



Gambar 3. Peremajaan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* pada medium PDA

2. Perendaman Sargassum dalam H₂SO₄

a. Berikut adalah gambar perendaman Sargassum dalam H₂SO₄ sesuai perlakuan.



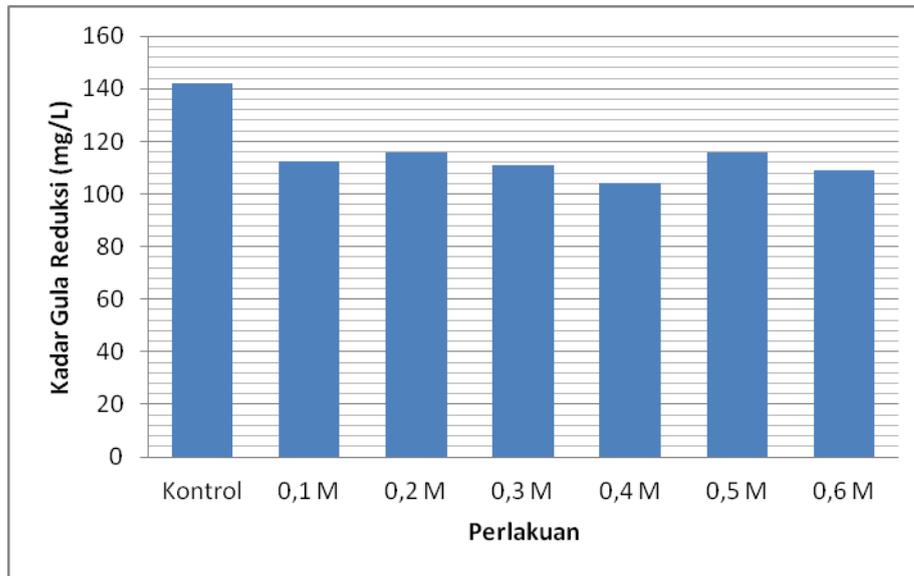
Gambar 4. Perendaman Sargassum dalam H₂SO₄ sesuai perlakuan.

b. Hasil Pengukuran gula reduksi

Hasil Pengukuran Gula Reduksi Sargassum dengan Perendaman H₂SO₄ seperti terdapat pada Tabel 2 berikut. (bukti pada lampiran 1)

Tabel 2. Hasil Pengukuran gula Reduksi Sargassum

Perlakuan Perendaman Sargassum dalam	Rata-rata Gula Reduksi (mg/L)
Kontrol (aquadest)	142,1
H ₂ SO ₄ (0,1 M)	112,5
H ₂ SO ₄ (0,2 M)	115,9
H ₂ SO ₄ (0,3 M)	110,9
H ₂ SO ₄ (0,4 M)	104, 2
H ₂ SO ₄ (0,5 M)	115,9
H ₂ SO ₄ (0,6 M)	109,2



Gambar 5. Hasil Pengukuran Gula reduksi

c. Fermentasi substrat *Sargassum*

Berikut gambar fermentasi substrat *Sargassum* dengan menggunakan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*.



Gambar 5. Fermentasi substrat *Sargassum* dengan menggunakan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*.

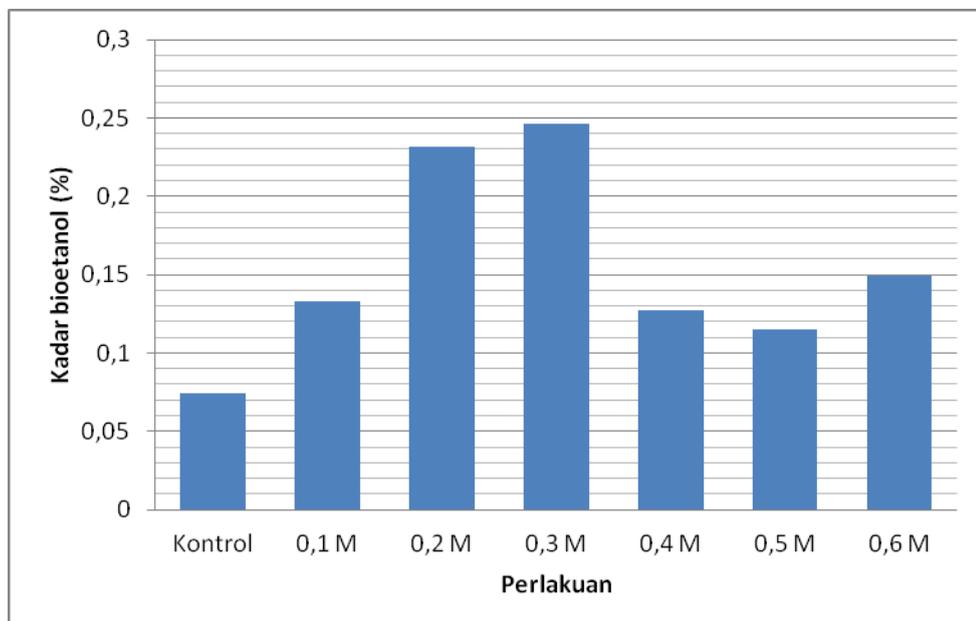
d. Hasil Pengukuran Kadar bioetanol *Sargassum* dengan fermentasi menggunakan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*.

Berikut Hasil Pengukuran Kadar bioetanol dengan perendaman dengan *Saccharomyces cerevisiae* (bukti pada lampiran 2)

Tabel 3. Hasil Pengukuran kadar bioetanol setelah fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Perlakuan Perendaman Sargassum dalam	Kadar etanol (%)
Kontrol (aquadest)	0,074
H ₂ SO ₄ (0,1 M)	0,133
H ₂ SO ₄ (0,2 M)	0,232
H ₂ SO ₄ (0,3 M)	0,246
H ₂ SO ₄ (0,4 M)	0,127
H ₂ SO ₄ (0,5 M)	0,115
H ₂ SO ₄ (0,6 M)	0,149

Berikut Gambar Hasil Pengukuran bioetanol



Gambar 6. Hasil Pengukuran kadar Bioetanol

Berdasarkan uji statistik yang telah dilakukan dengan ringkasan seperti pada Tabel 4 sebagai berikut:

data_perhitungan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2461.899	6	410.316	39.921	.000
Within Groups	143.893	14	10.278		
Total	2605.792	20			

Berdasar hasil uji Anava terlihat nilai sig F hitung $0.00 < 0.05$ maka H_0 ditolak, atau terdapat perbedaan yang nyata.

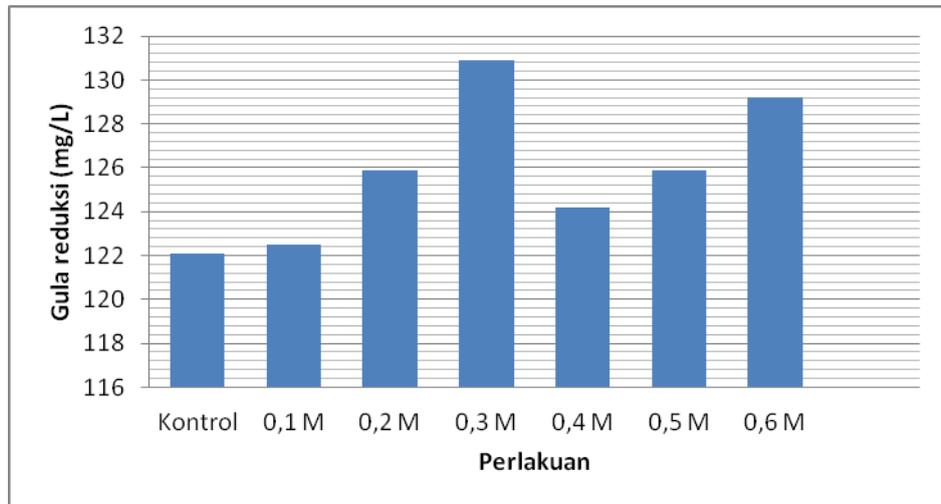
4. Perlakuan dengan enzim cellulase *Aspergillus niger* Sigma C 1184 0.5 g/ml

- a. Hasil Pengukuran gula reduksi substrat Sargassum setelah menggunakan enzim cellulase menghasilkan gula reduksi yang cukup tinggi, yaitu seperti terdapat pada Tabel 5 berikut

Tabel 5. Rerata hasil pengukuran Gula reduksi Sargassum dengan perlakuan perendaman H_2SO_4

Perlakuan Perendaman Sargassum dalam	Rata-rata Gula Reduksi (mg/L)
Kontrol (aquadest)	122,1
H_2SO_4 (0,1 M)	122,5
H_2SO_4 (0,2 M)	125,9
H_2SO_4 (0,3 M)	130,9
H_2SO_4 (0,4 M)	124, 2
H_2SO_4 (0,5 M)	125,9
H_2SO_4 (0,6 M)	129,2

Berikut Gambar Hasil pengukuran gula reduksi setelah perlakuan dengan enzim cellulase

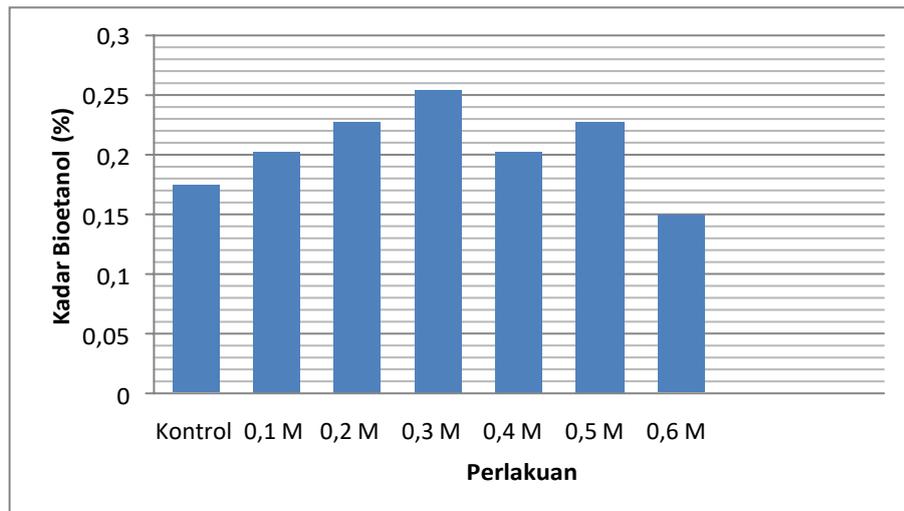


Gambar 7. Hasil pengukuran gula reduksi setelah perlakuan dengan enzim cellulase

- b. Hasil uji kadar bioetanol setelah perlakuan fermentasi dengan kultur *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 6. Hasil pengukuran kadar bioetanol *Sargassum* setelah perlakuan enzim cellulase.

Perlakuan Perendaman <i>Sargassum</i> dalam	Kadar etanol (%)
Kontrol (aquadest)	0,175
H ₂ SO ₄ (0,1 M)	0,202
H ₂ SO ₄ (0,2 M)	0,228
H ₂ SO ₄ (0,3 M)	0,255
H ₂ SO ₄ (0,4 M)	0,202
H ₂ SO ₄ (0,5 M)	0,228
H ₂ SO ₄ (0,6 M)	0,149



Gambar 8. Hasil pengukuran kadar bioetanol setelah perlakuan dengan enzim cellulase

B. Pembahasan

Langkah pertama dari penelitian ini adalah sterilisasi alat dan bahan, semua bahan dan peralatan yang digunakan dalam penelitian ini harus dalam keadaan steril. Steril artinya tidak terdapat mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya baik yang mengganggu atau merusak media serta mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan. Sterilisasi media fermentasi dilakukan menggunakan autoklaf bertekanan 1 atm selama 15 menit, untuk sterilisasi alat menggunakan panas kering seperti oven dengan suhu 170°C selama 2 jam (Riadi, 2007), khusus untuk ose yang digunakan untuk inokulasi jamur sterilisasinya dilakukan dengan pembakaran sampai pijar (Waluyo, 2007).

Penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* dikarenakan sesuai dengan pendapat Priyo (1997) dan Wirahadikusumah (2002) bahwa *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengurai glukosa menjadi piruvat dengan bantuan enzim piruvat dekarboksilase yang direduksi menjadi etanol melalui peristiwa glikolisis.

Fermentasi etanol merupakan aktivitas biologi yang mengubah material organik kompleks menjadi sederhana menggunakan mikroorganisme.

Komponen kompleks seperti selulosa harus dipecah terlebih dahulu menjadi glukosa agar dapat digunakan oleh mikrobia fermentasi, salah satunya adalah pengubahan selulosa dan lignoselulosa menjadi glukosa dengan bantuan enzim atau perlakuan asam (Lin dan Tanaka, 2006)

Pada penelitian ini dilakukan proses hidrolisis menggunakan asam kuat dengan tujuan untuk mengubah lignin dan selulosa menjadi (glukosa) dengan menggunakan konsentrasi asam tertentu, lama pemanasan dan temperatur tertentu (Lee Soojin, 2010). Jumlah konsentrasi H_2SO_4 yang efektif untuk proses hidrolisis yaitu menggunakan konsentrasi 0,4M yang dipanaskan menggunakan autoklaf dengan suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit (Saputra dkk, 2012). Hal ini dikarenakan hidrolisis menggunakan asam dapat meningkatkan kuantitas glukosa, karena dengan asam dapat memutuskan ikatan β -1,4 glikosida pada selulosa sehingga terpecah menjadi glukosa (Kumar dan Murthy, 2013).

Berdasar Tabel 2 terlihat hasil perendaman dengan H_2SO_4 menghasilkan gula reduksi tertinggi masih pada kontrol yaitu 142,1 mg/L peringkat kedua pada perlakuan pada 0,5 M, yaitu 115,9 mg/L hal tersebut mungkin disebabkan karena asam kuat juga berpengaruh pada kerja gula reduksi yang seharusnya dengan perlakuan asam kuat akan meningkatkan kadar gula reduksi, tetapi pada hasil penelitian menunjukkan justru yang terbaik pada perlakuan kontrol dengan aquadest. Pada pengukuran kadar etanol setelah fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* terlihat kadar bioetanol tertinggi pada perlakuan perendaman H_2SO_4 0,3 M yaitu 0,246% hal tersebut mungkin disebabkan karena *S. cerevisiae* mampu mengubah gula reduksi menjadi alkohol dengan baik seperti yang disampaikan oleh Priyo (1997) dan Wirahadikusumah (2002) bahwa penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* dapat mengurai glukosa menjadi piruvat dengan bantuan enzim piruvat dekarboksilase yang direduksi menjadi etanol melalui peristiwa glikolisis.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat setelah perlakuan dengan enzim cellulase menghasilkan gula reduksi yang lebih tinggi, hal tersebut disebabkan karena

perlakuan dengan enzim cellulase dapat mengubah sellulosa pada *Sargassum* menjadi glukosa, hal tersebut sesuai pendapat Sari *et al*, (2014) bahwa Hasil analisis aktivitas enzim selulase untuk mendegradasi fraksi selulosa dalam substrat menjadi glukosa dan selooligosakarida

Berdasar Tabel 5. Hasil pengukuran kadar bioetanol *Sargassum* pada perlakuan fermentasi dengan *S.cerevisiae* menunjukkan hasil peningkatan kadar bioetanol, khususnya pada perlakuan perendaman H_2SO_4 0,3 M, yaitu kadar bioetanolnya 0,255 %. Peningkatan yang terjadi memang tidak signifikan hal tersebut mungkin disebabkan karena enzim cellulase yang digunakan hanya 1 yaitu dari *Aspergillus niger* Sigma C 1184. Hal tersebut sesuai pendapat Menurut Adams *et al*. (2009), dengan menggunakan enzim yang tepat, selulosa, *mannitol*, dan laminaran dapat dihidrolisis dan dikonversi menjadi glukosa dan fruktosa setelah itu dengan menggunakan khamir dapat diproduksi menjadi bioetanol. Namun karena kompleksnya komposisi dari monosakarida saat hidrolisis dan fermentasi mengakibatkan ketidakkonsistenan pada tahapan produksi bioetanol (Hyeon *et al.*, 2011)

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar bioetanol Sargassum dapat ditingkatkan dengan penambahan enzim cellulase sebesar 1%

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disampaikan saran bahwa untuk lebih dapat meningkatkan kadar bioetanol Sargassum diperlukan kombinasi Enzim cellulase antara lain dari Fungi *Tricoderma viridae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, J.M.M., Joseph, A.G., & Lain, S.D. (2009). Fermentation study on *Saccharina latissima* for bioethanol production considering variable pretreatments. *J. Appl Phycol.* 21: 569–574.
- Anonim, 2007. *Alkohol*. <http://www.wikipedia.com/alkohol> download tanggal 27 Maret 2008
- _____, 2008. *Glycolysis cycle*. <http://www.people.eku.edu/ritchisong/RITCHISO/glycolysis.gif> download tanggal 27 Maret 2008
- _____, 2000. *Alkohol*. <http://www.pustekkom.com/alkohol> download tanggal 27 Maret
- _____, 2008, <http://www.trubus-online.com,/ethanol>
- _____, 2006, <http://www.trubus-online.com,/ethanol>
- _____, 2009, *Algae Sargassum* <http://zaifbio.wordpress.com/2009/01/30/ganggang-algae>, download tanggal 21 Agustus 2011
- Buckle, Edward, Fleet, Wootton, 1987. *Ilmu Pangan*. Jakarta : Universitas Indonesia Press
- Burtin P, 2003, Nutritional Value of seaweeds, *J. Environ Agrc Food Chem.*, 2; 298 – 503.
- Desrosier, Norman W, 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Febriani, Ali Ridlo, AB. Susanto. 2014. Potensi Yeast Dalam Fermentasi Alginofit *Sargassum Polycystum* C.A Agardh Dengan Hidrolisis Asam Sulfat Untuk Pembuatan Bioetanol. *Journal Of Marine Research*. Volume 2, Nomor 3, Tahun 2014, Hal. 91-98 Online di: <http://ejournals1.undip.ac.id/index.php/jmr>
- Hidayat, Nur, 2007. *Teknologi Pertanian dan Pangan*. <http://www.worldpress.com/fermentasi>. download tanggal 23 Maret 2008
- Hyeon, J.Y., S.E. Lee, W.Y. Choi, D.H. Kang, H.Y. Lee, & K.H. Jung. (2011). Repeated-batch operation of surface-aerated fermentor for bioethanol production from the hydrolysate of seaweed *Sargassum sagamianum*. *J. of Microbiol. Biotechhnol.* 21(3): 323–331.

- Kadi, A dan W,S. Atmajaya 1988, *Rumput Laut (Algae)*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseonologi, LIPI. Jakarta.
- Narita, Vanny, 2005. *Saccharomyces cerevisiae Superjamur yang Memiliki Sejarah Luar Biasa*. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT). Jakarta. [http://www.bppt.com/Saccharomyces cerevisiae](http://www.bppt.com/Saccharomyces_cerevisiae). download tanggal 10 Maret 2008.
- Priyo, 2007. *Bagaimana proses pembuatan alkohol 96% dari fermentasi tetes tebu beserta reaksi yang terjadi*. <http://www.yahooanswer.com/alkohol> download tanggal 10 Maret 2008.
- Riadi, Lieke, 2007. *Teknologi Fermentasi*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Rioux L.E , S.L. Turgeon , M. Beaulieu. 2007, *Journal Of Characterization Of Polysaccharides Extracted From Brown Seaweeds*
- Saputra, Dion, Ali Ridho, Ita Widowati. 2012. Kajian Rumput laut *Sargassum duplicatum* J.G Agardh sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Journal of Marine* Volume 1 Nomor 2 Tahun 2012
- Sa'id, Gumbira, 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. Jakarta : PT. Melon Putra
- Sari, R.N. (2010). *Kajian Proses Produksi Bioetanol dari Rumput Laut Coklat (Sargassum duplicatum)*. Tesis. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sari, Bagus Sediadi Bandol Utomo, dan Armansyah H. Tambunan. 2014. Kondisi Optimum Produksi Bioetanol Dari Rumput Laut Coklat (*Sargassum Duplicatum*) Menggunakan *Trichoderma Viride* Dan *Pichia Angophorae*. *Jurnal JPB Perikanan* Vol. 9 No. 2 Tahun 2014: 121–132
- Sari, Anita Purnama, Ahyar Ahmad, Hanapi Usman. 2011. *Produksi Bioetanol dari Sellulosa Alga Merah dengan Sistem Fermentasi Simultan menggunakan Bakteri Clostridium acetobutylicum*
- Sardjoko, 1991. *Bioteknologi Latar Belakangdan Beberapa Penerapannya*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama
- Surawidjaja dalam Trubus, 2007, *Mengebor Bensin di Kebun Singkong* <http://www.trubus-online.com>.

Suhartanti, D, 2007. *Diktat Kuliah (hand out) Mikrobiologi I*

Suhartanti, D, 2006. *Diktat Kuliah (hand out) Mikrobiologi II*

Sukarno dan Amin, 1996. *Biologi*. Jakarta : Departemen Pendidikan Nasional

Wirahadikusumah, Muhammad, 2002. *Biokimia Metabolisme Energi, Karbohidrat, dan Lipid*. Bandung : Penerbit ITB Bandung



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Soeio Yustisia 1, Bulakumur, Yogyakarta 55281
Telp. 0274-549650, 6291320, 41301; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 231 / PS / 05/ 15

Lab Penguji : KBPHP
Tanggal Pengujian : Juni 2015
Sampel : Jus Sargassum

No	Sampel / kode	Macam analisa	Hasil Analisa	
			UI.1	UI.2
1.	KO1	Kadar Alkohol (%)	0.074	0.070
2.	KO2		0.072	0.064
3.	KO3		0.076	0.068
4.	K11		0.131	0.127
5.	K12		0.135	0.125
6.	K13		0.133	0.139
7.	K21		0.246	0.238
8.	K22		0.232	0.227
9.	K23		0.221	0.217
10.	K31		0.127	0.137
11.	K32		0.174	0.180
12.	K33		0.115	0.121
13.	K41		0.131	0.141
14.	K42		0.074	0.070
15.	K43		0.086	0.080

Penyelia

Dr. Ir. Sri Naruki, MS

Dilaporkan oleh
Analisis

M. Khak, STP

Catatan : Hasil Analisa hanya berlaku untuk sampel yang kami analisa pada tanggal yang tercantum di atas.



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp.0274-524517 , 901311; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 454 / PS /06/15

Lab. Penguji : KBPHP
Tanggal Pengujian : 25 Juni 2015
Sampel : Sargasum (28 Sampel)

No	Sampel / kode	Macam analisa	Hasil analisa		
			UI 1	UI 2	UI 3
	Blanko	Kadar Alkohol (%)	0,143	0,146	
1.	K1	Kadar Alkohol (%)	0,170	0,175	
2.	K2	Kadar Alkohol (%)	0,167	0,164	
3.	K3	Kadar Alkohol (%)	0,175	0,159	
4.	K4	Kadar Alkohol (%)	0,170	0,164	
5.	A1	Kadar Alkohol (%)	0,175	0,169	
6.	A2	Kadar Alkohol (%)	0,202	0,199	
7.	A3	Kadar Alkohol (%)	0,175	0,167	
8.	A4	Kadar Alkohol (%)	0,175	0,164	
9.	B1	Kadar Alkohol (%)	0,173	0,183	
10.	B2	Kadar Alkohol (%)	0,199	0,194	
11.	B3	Kadar Alkohol (%)	0,228	0,215	
12.	B4	Kadar Alkohol (%)	0,223	0,218	
13.	C1	Kadar Alkohol (%)	0,255	0,228	
14.	C2	Kadar Alkohol (%)	0,122	0,122	



Dr. Nat. F.M.C. Sigit Setyabudi, STP., MSc.

Dilaporkan oleh
Analisis

Muhammad Khak, STP

Catatan: Hasil analisa hanya berlaku untuk sampel yang dianalisa



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp.0274-524517 , 901311; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 454 / PS /06/15

Lab. Penguji : KBPHP
Tanggal Pengujian : 25 Juni 2015
Sampel : Sargasum (28 Sampel)

No	Sampel / kode	Macam analisa	Hasil analisa		
			UI 1	UI 2	UI 3
15.	C3	Kadar Alkohol (%)	0,079	0,079	
16.	C4	Kadar Alkohol (%)	0,149	0,149	
17.	D1	Kadar Alkohol (%)	0,175	0,175	
18.	D2	Kadar Alkohol (%)	0,069	0,069	
19.	D3	Kadar Alkohol (%)	0,069	0,069	
20.	D4	Kadar Alkohol (%)	0,202	0,202	
21.	E1	Kadar Alkohol (%)	0,069	0,069	
22.	E2	Kadar Alkohol (%)	0,149	0,149	
23.	E3	Kadar Alkohol (%)	0,175	0,175	
24.	E4	Kadar Alkohol (%)	0,228	0,228	
25.	F1	Kadar Alkohol (%)	0,069	0,069	
26.	F2	Kadar Alkohol (%)	0,079	0,079	
27.	F3	Kadar Alkohol (%)	0,122	0,122	
28.	F4	Kadar Alkohol (%)	0,149	0,122	



Dr. Nat. F.M.C. Sigit Setyabudi, STP., MSc.

Dilaporkan oleh
Analisis

Muhammad Khak, STP

Catatan: Hasil analisa hanya berlaku untuk sampel yang dianalisa

Lampiran Biodata Ketua dan Anggota Tim Pengusul

Biodata Ketua Tim Pengusul

A. Identitas Diri

1	Nama lengkap	Trianik Widyaningrum,M.Si
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Dosen Pendidikan Biologi UAD
4	NIY	60970160
5	NIDN	0514017001
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Semarang, 14 Januari 1970
7	E-mail	trianikwidyaningrum@ymail.com
8	Nomor Telpon/HP	0816682123
9	Alamat kantor	UAD Kampus 3. Jl.Prof.Dr.Soepomo Janturan Yogyakarta
10	Nomor telepon/Faks	(0274) 563515/ (0274) 564604
11	Lulusan yang Telah dihasilkan	S1 = 310 orang S2 = 0 S3 = 0
12	Mata kuliah yang Diampu	1. Biologi Dasar 2. Genetika 3. Evolusi 4. Dasar-dasar Bioteknologi

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	UGM	UGM	
Bidang Ilmu	Biologi	Biologi	
Tahun Masuk-Lulus	1988-1994	1998-2001	
Judul skripsi/thesis/disertasi	Stratigrafi Pollen dan Spora di Telaga Sumurup Dieng	Ribosom Inactivating Protein (RIPs) <i>Curcuma mangga</i> yang Tumbuh pada Ketinggian yang Berbeda	
Nama Pembimbing/Promotor	Dr.Agus Pudjoarinto,SU	Dr.Hari Hartiko,SU	

C. Pengalaman Penelitian dalam 5 Tahun terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta)
1	2011	Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Racunan (<i>Euphorbia pulcherrima</i>) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis.	UAD	4
2	2012	Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Racunan (<i>Euphorbia pulcherrima</i>) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis.	UAD	4,5
3	2013	Peningkatan Bioetanol Sargassum Dengan Penambahan Kultur Murni <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	UAD	5
4	2014	Kadar Bioetanol Fermentasi Kulit Jagung Menggunakan Ragi (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Dikti	9
5	2014	Pengembangan Media Pembelajaran Biologi SMA Berbasis Kontekstual Pada Rumpun Bioteknologi Melalui Penerapan Hasil Penelitian Kadar Bioetanol Fermentasi Kulit Jagung Menggunakan Ragi (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) Di SMA Muhammadiyah 3 Yogyakarta	Dikti	13

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta)
1	2011	Memberikan Pelatihan Aktif Learning kepada Guru-guru SMP Negeri 2 Bantul	UAD	0,4
2	2012	Memberikan Pelatihan Aktif Learning kepada Guru-guru SMP,SMA,SMK Muhammadiyah di Purbalingga	UAD	1
3	2012	Memberikan Pelatihan Aktif Learning kepada Mahasiswa STKIP Muhammadiyah Pringsewu Lampung	UAD	1,5
4	2012	IbM Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Beras Hitam di Bantul	DP2M	40
5	2013	Tot Pelatihan Motivasi Belajar Siswa Dan Pelatihan Pengembangan Pembelajaran Aktif Bagi Guru Di SMP Negeri 3 Pajangan Dan SMP Negeri 2 Kasihan Bantul	DP2M	45

6	2014	TOT Pelatihan Motivasi Belajar Siswa Dan Pelatihan Pengembangan Pembelajaran Aktif Bagi Guru Di SMP Muhammadiyah 1 dan SMP Muhammadiyah 2 Gamping	DP2M	44,5
7	2014	Pemberdayaan Masyarakat dalam Pembuatan Pupuk Organik guna Mensiasati Kerusakan Tanah di Desa Sidomulyo Kecamatan Bambanglipuro Kabupaten Bantul	DP2M	80

E. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun
1	Pengaruh Ekstrak Air Bayam Terhadap Kadar Hb dan Tekanan darah Mencit	Bio Edukasi	Vol I No. 1 Juli 2013

F. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 5 Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Seminar Nasional Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya, Menuju Pembangunan Karakter	Pengaruh merciru klorida terhadap pertumbuhan dan histopatologi ginjal ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i> L.)	16 Juli 2011 di UNS
2	Seminar Nasional Alfa	Peningkatan pemahaman siswa siswa SMA kelas XI pada materi mata pelajaran struktur dan fungsi membran plasma melalui membran 3 dimensi	2011 di UKSW
3	International Conference On Green World in Business and Technology.	Test Antibacterial Activity of Ethanol Extract Racunan Leaf (<i>Euphorbia</i> Wild) Against Bacteria Escherichia Coli Profile With Thin Layer Chormatography	23-24 Maret 2012 di UAD
4	Seminar Nasional Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya, Menuju Pembangunan Karakter	Pengaruh dosis ekstrak air kangkung (<i>ipomoea reptans</i> poir.) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin mencit (<i>mus musculus</i>)	7 Juli 2012 di UNS
5	Seminar Nasional	Pengaruh Model Pembelajaran	3

	Pengembangan Pendidikan ALFA	Kelompok Dan Model Pembelajaran Jigsaw Terhadap Hasil Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UAD Pada Mata Kuliah Biologi Dasar 2	November 2012 di UNS
6	International Conference On Green Economy	Test Antibacterial Activity of Ethanol Extract Racunan Flower (<i>Euporbia Wild</i>) Against Bacteria <i>Escherichia coli</i> and Profile With Thin Layer Chormatography	22-23 Desember 2012
7.	International Conference on Green Word in Business and Teknology.	Test Antibacterial Activity of Ethanol Extract Racunan Flower (<i>Euporbia Wild</i>) Against Bacteria <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aures</i> and Profile With Thin Layer Chormatography	23 Maret 2013
8	International Conference on Green Word in Business and Teknology.	Effect Of Ethanol Extract Flower <i>Chrysanthemum Cinerariaefolium</i> Trev) On Mortality Mosquito Larvae Of <i>Aedes Albopictus</i> (Skuse)	29 Maret 2014

G. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Modul TOT Motivasi Berprestasi	2013	100	deepublish
2	Modul TOT Pembelajaran aktif	2013	112	deepublish
3				
Dst.				

H. Perolehan HKI dalam 5–10 Tahun Terakhir

No.	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1	Modul TOT Motivasi Berprestasi	2013	Buku ISBN	C22201400025
2	Modul TOT Pembelajaran aktif	2013	Buku ISBN	C22201400024
3				
Dst.				

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima risikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Penelitian Hibah bersaing.

Yogyakarta 29 April 2014



Trianik Widyaningrum, M.Si

Biodata Anggota Peneliti

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Indro Prastowo, STP, M.Biotech
2	Jenis Kelamin	Laki-laki
3	Jabatan Fungsional	Dosen Pendidikan Biologi UAD
4	NIY	60120704
5	NIDN	<u>0525018601</u>
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Yogyakarta, 25 Januari 1986
7	Email	<u>indro.prastowo25@gmail.com</u>
8	No HP	08122574794
9	Alamat Kantor	Kampus III Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta 55164,
10	Nomor Telepon/Faks	(0274) 564604
11	Lulusan yang Telah Dihasilkan	0
12 Mata Kuliah yg Diampu		Teknologi Fermentasi
		Aplikasi Komputer
		Mikrobiologi I
		Mikrobiologi II
		Ilmu Alamiah Dasar

A. Riwayat Pendidikan

	S1	S2	S3
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Gadjah Mada	Universitas Gadjah Mada	
Bidang Ilmu	Teknologi Industri Pertanian	Bioteknologi	
Tahun Masuk-Lulus	2004-2008	2009-2011	

Judul Skripsi/Thesis/Desertasi	Kelayakan Industri Biodiesel Berbasis Minyak Algae (<i>Scenedesmus dimorphus</i>)	Sintesis Etil Ester Asam Lemak Secara Enzimatis Menggunakan Lipase Kecambah Biji Jarak (<i>Jatropha curcas</i>) dan Rice Bran (<i>Oryza sativa</i>) pada Sistem <i>Batch</i> dan <i>Fed Batch</i> .	
Nama Pembimbing	Dr. Ir. Dyah Ismoyowati, M.Si	Dr. Ir. Chusnul Hidayat, M.Sc.	

B. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rupiah)

C. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rupiah)

D. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun
1	Sintesis Ester Etil Oleat Secara Enzimatis Menggunakan Lipase Kecambah Biji Jarak Dalam Sistem <i>Fed-Batch</i>	Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Kelapa Sawit Indonesia (MAKSI)	2012
2	Production and Optimization of Oleic Acid Ethyl Ester Synthesis Using Lipase From Rice Bran (<i>Oryza sativa</i>) and Germinated <i>Jatropha</i> Seeds (<i>Jatropha curcas</i> .L) by Response Surface Methodology	Indonesian Journal of Biotechnology	(2012). 17 : 17-26

E. Pemakalah Seminar Ilmiah (Oral Presentation) dalam 5 Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	The 2 nd International Conference on Green World in Business and Technology 2013	Production and Kinetic Study of Oleic Acid Ethyl Ester Synthesis Using Lipase From Germinated <i>Jatropha</i> Seeds (<i>Jatropha curcas</i> .L)	Yogyakarta, 23 Maret 2013.

F. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit

G. Perolehan HKI dalam 5–10 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	P/ID

H. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Sosial Lainnya yang Telah Diterapkan	Tahun	Tempat Penempatan	Respon Masyarakat

I. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Pemenang Hibah Program Kreatifitas Mahasiswa Nasional	Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.	2006
2	Juara I Lomba Teknologi dan Inovasi Mahasiswa	Dinas Pendidikan Nasional Daerah Istimewa Yogyakarta	2006
3	Pemenang Hibah Program Kreatifitas Mahasiswa Nasional	Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.	2007
4	Pemenang Hibah Program Kreatifitas Mahasiswa Nasional	Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.	2008

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi. Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Penelitian Hibah Bersaing

Yogyakarta, 27 April 2014

Pengusul,

A rectangular box containing a handwritten signature in black ink. The signature is stylized and appears to be 'Indro Prastowo'.

Indro Prastowo, M. Biotech

113/ BIOLOGI (BIOTEKNOLOGI UMUM)

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN HIBAH BERSAING
TAHUN KEDUA**



**PENINGKATAN BIOETANOL SARGASSUM MELALUI PENAMBAHAN
ENZIM SELULASE**

Penelitian ini Terlaksana Dengan Bantuan Dana Penelitian Hibah Bersaing
Sesuai Kontrak Nomor: 011/HB-LIT/III/2016 tanggal 15 Maret 2016

TIM PENGUSUL:

Trianik Widyaningrum, M.Si NIDN : 0514017001
Indro Prastowo, STP.M.Biotech NIDN : 0525018601

**UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
OKTOBER, 2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : PENINGKATAN KADAR BIOETANOL SARGASSUM
MELALUI PENAMBAHAN ENZIM SELULASE

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : TRIANIK WIDYANINGRUM S.Si., M.Si.
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
NIDN : 0514017001
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Pendidikan Biologi
Nomor HP : 0816682123
Alamat surel (e-mail) : trianikwidyaningrum@ymail.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : INDRO PRASTOWO S.TP
NIDN : 0525018601
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
Institusi Mitra (jika ada) : -
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 50.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 110.000.000,00

Mengetahui,
Dekan FKIP UAD



(Dr. Traknasih Handayani, M.Si)
NIP/NIK. 195909071985032002

Yogyakarta, 14 - 10 - 2016
Ketua,

(TRIANIK WIDYANINGRUM S.Si., M.Si.)
NIP/NIK 60970160

Menyetujui,
Kepala LPP UAD



(Dr. Widodo, M.Si)
NIP/NIK 196002211987091001



**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU
PENDIDIKAN**

Jalan Pramuka No. 42 Sidikan Yogyakarta 55161
Telp. (0274) 563515, 511830, 371120 Fax. (0274) 564604

**SURAT PERNYATAAN
TELAH MENYELESAIKAN SELURUH PEKERJAAN
HIBAH PENELITIAN DESENTRALISASI TAHUN 2016**

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : Trianik Widyaningrum, M.Si
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Hibah Bersaing
Judul Penelitian : Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase

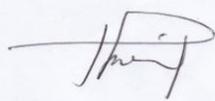
Dengan ini menyatakan bahwa, saya telah menyelesaikan seluruh pekerjaan penelitian dan telah menyusun Laporan Hasil Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2016 dengan judul dan skim sebagaimana tersebut di atas.

Demikian Pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 12 Oktober 2016
Ketua Peneliti,

Mengetahui
Dekan,


Dr. Trikinasih Handayani, M.Si
NIP. 195909071985032002



Trianik Widyaningrum, M.Si
NIY. 60970160

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Ahmad Dahlan,


Dr. Widodo, M.Si
NIP. 196002211987091001

BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN (BAPP)
Nomor: BAPP-042/SP3/III/2016

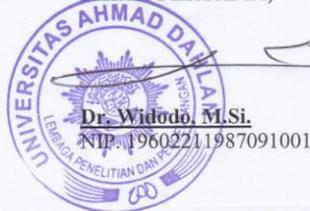
Pada hari ini Rabu, tanggal dua belas Oktober duaribu enam belas (12-10-2016), kami yang bertandatangan di bawah ini:

I.	N a m a	: Dr. Widodo, M.Si.
	Jabatan	: Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD).
Selanjutnya disebut PIHAK PERTAMA		
II.	Nama	: Trianik Widyaningrum, M.Si
	Jabatan	: Dosen/Peneliti
	Skim	: Penelitian Hibah Bersaing
	Judul Penelitian	: Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase
Selanjutnya disebut PIHAK KEDUA .		

1. Dengan ini **PIHAK KEDUA** menyatakan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang telah dtugaskan oleh **PIHAK PERTAMA** berupa Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2016 sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2016 Nomor: 011/HB-LIT/III/2016 tanggal 15 Maret 2016.
2. **PIHAK PERTAMA** menerima hasil pekerjaan yang telah diselesaikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagaimana tersebut di atas.

Yogyakarta, 12 Oktober 2016

PIHAK PERTAMA,



PIHAK KEDUA,

Trianik Widyaningrum, M.Si
NIY. 60970160

KATA PENGANTAR



Alhamdulillahirobbilalamin. Segala puji hanya bagi Allah yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penelitian yang berjudul Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase ini dapat terselesaikan.

Dalam penulisan dan penyusunan penelitian ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, pada keempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal, Penguatan Riset dan Pengembangan yang telah memberikan dana Hibah Bersaing ini.
2. Dr. H. Kasiyarno, M.Hum. selaku Rektor Universitas Ahmad Dahlan.
3. Dr. Trikinasih Handayani, M.Si selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Ahmad Dahlan.
4. Dr. Widodo, M.Si selaku Kepala LPP Universitas Ahmad Dahlan
5. LPP dan Jajarannya yang telah memberikan bantuan dan motivasi.
6. Teknisi laboratorium yang telah membantu dalam penelitian ini
7. Suami dan anak-anakku yang telah memberikan motivasi hingga selesainya penelitian ini.
8. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua dan semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat sebagai ilmu tambahan dan semoga karya ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Yogyakarta, 25 Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN PENYELESAIAN PEKERJAAN.....	iii
BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
ABSTRAK	vi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Penelitian Yang Relevan.....	4
B. Kajian Teori.....	4
1. Sargassum.....	4
2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
3. Fermentasi.....	11
4. Faktor yang mempengaruhi Fermentasi.....	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN.....	37

ABSTRAK

Indonesia berpotensi sebagai produsen bioetanol terbesar di dunia. Etanol hasil fermentasi dari ragi dapat digunakan di bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkit tenaga, selain itu sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oil, dan lilin. Penggunaan lainnya yaitu di bidang kedokteran, laboratorium, dan keperluan rumah tangga. Periset di Balai Besar Teknologi Pati menyebutkan bahwa ada 3 kelompok tanaman sumber bioetanol yaitu tanaman yang mengandung pati seperti gandum, tanaman yang bergula seperti tebu dan tanaman yang berselulosa seperti *Sargassum*. Pada penelitian tahun pertama peningkatan bioetanol menggunakan enzim sellulase dari *Aspergillus niger* diperoleh hasil bioetanol dapat ditingkatkan 2 %. Kadar bioetanol tersebut masih dapat ditingkatkan lagi dengan menggunakan enzim cellulase menggunakan dua mikrobia yaitu *Trichoderma reesai* dan *Aspergillus niger* yang telah terbukti dapat mendegradasi sellulosa menjadi glukosa reduksi yang tinggi, maka tujuan dari penelitian tahun kedua ini adalah untuk mengetahui berapa persen peningkatan kadar bioetanol *Sargassum* tersebut melalui penambahan enzim sellulase gabungan dari dua mikrobia yaitu *Trichoderma reesai* dan *Aspergillus niger*.

Penelitian ini menggunakan langkah-langkah antara lain pembuatan filtrat substrat *Sargassum*, penambahan enzim cellulase, pengukuran kadar glukosa, dan inokulasi dengan *Saccharomyces cerevisiae*, destilasi, dan pengukuran kadar bioetanol menggunakan metode *Gas Chromatography* (GC-14B).

Berdasar hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar bioetanol dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase yang berasal dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. Dengan penambahan enzim sellulase yang berasal dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* kadar bioetanol dapat ditingkatkan sebesar 64%.

Kata Kunci: *Sargassum*, bioetanol, enzim sellulase, *Saccharomyces cerevisiae*

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia berpotensi sebagai produsen bioetanol terbesar di dunia, menurut Yudiarto, (<http://www.trubus-online.com>,2008). Etanol hasil fermentasi dari ragi dapat digunakan di bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkitan tenaga, selain itu sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oli, dan lilin. Penggunaan lainnya yaitu di bidang kedokteran, laboratorium, dan keperluan rumah tangga (Narita, 2005).

Periset di Balai Besar Teknologi Pati menyebutkan bahwa ada 3 kelompok tanaman sumber bioetanol yaitu tanaman yang mengandung pati seperti gandum, tanaman yang bergula seperti tebu dan tanaman yang berselulosa seperti *Sargassum* (<http://www.trubus-online.com>,2008). Menurut (Burtin, 2003). *Sargassum Sp.* juga mengandung laminarin, fukoidin, dan manitol.

Sargassum Sp. adalah jenis alga coklat (*Phaeophyta*) yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae* yang mengandung serat pangan tinggi dan kaya akan asam lemak dengan 20 karbon atom seperti asam pentotenat (EPA, ω 3 C20:5) dan asam arakidonat (AA, ω 6 C20:4) (Burtin, 2003). Asam lemak esensial tidak jenuh yaitu omega-3 (EPA, ω 3C20:5) dapat mengurangi resiko penyakit hati, trombosis dan arteroklerosis (Ortiz *et al*, 2006) (Nijamuddin,1970).

Sargassum Sp. tumbuh diperairan yang terlindung pada kedalaman 0,5 – 10 m yang ada arus dan ombak besar, pada habitat batu tumbuh melekat substat dasar perairan membentuk rumpun besar, panjang tali utama 0,5 – 3 m dengan untaian cabang tali terdapat kantong udara (*bladder*), selalu muncul diatas permukaan laut. merupakan salah satu rumput laut Indonesia yang bernilai ekonomis, salah satu daerah pertumbuhannya adalah pantai Sumbawa Prajak, Bima, dan Sanggar (Kadi dan Atmadja,1988).

Sargassum Sp. asal Bima memiliki kelebihan tersendiri dibandingkan dengan *Sargassum Sp.* dari daerah lain, menurut pedagang rumput laut dari

Jawa Gema Niaga Mandiri yang juga pengumpul *Sargassum Sp.* asal Bima menyatakan bahwa bahan baku yang berasal dari Bima sangat di gemari oleh pembeli yang berasal dari Cina karena merupakan salah satu jenis *Sargassum Sp.* terbaik dengan kualitas nomor 1 (satu) di dunia, dengan tingkat Natriumnya yang sangat tinggi jika dibandingkan dengan *Sargassum Sp.* dari daerah lain.

Hasil observasi lapangan yang dilakukan oleh Tim Peneliti di Perairan Kabupaten Bima Kecamatan Langgudu Desa Karumbu pada tanggal 27 Mei 2011 dengan mewawancarai seorang petani sekaligus pengumpul dan penjual rumput laut yang bernama Pak Kamson diketahui bahwa disamping melaksanakan budidaya rumput laut petani-petani desa Karumbu juga mengambil dan mengumpulkan *Sargassum Sp. (Gose;langgudu)*. Tanaman tersebut menyebar sepanjang perairan Pusu, Wadu Roka sampai Monta terdiri atas dua jenis yang bertalus lebar dan kecil. Produksi tergantung dari besar kecilnya arus laut dengan jumlah paling banyak pada saat gelombang tenang, dipanen diatas 10 hari bulan langit pada musim bara terutama bulan Desember sampai Januari. Gose setiap bulan dapat dipanen rata rata mencapai 300 – 400 ton. Dipanen pada saat air surut dan besar kecilnya jumlah hasil panen tergantung dari cuaca perairan, pasang surut air laut dan kecepatan angin. Gose di daerah Langgudu ini memiliki siklus panen yang singkat dalam waktu 1 minggu dan yang dipetik pucuknya sekitar 30 cm, sehingga kalau cuaca memungkinkan dapat dipanen sepanjang tahun. Gose yang diambil di dalam laut, dikeringkan selama satu hari kemudian siap untuk dikirim ke Surabaya untuk di ekspor, para petani dan pengepul belum bisa menjelaskan apa manfaat dan bagaimana cara memanfaatkan Gose tersebut.

Di Perairan Kota Bima kecamatan Kolo *Sargassum sp* disebut Kahanggo. Kahanggo di Perairan Kolo tumbuh sesuai musim dengan produksi terbanyak pada musim bara sekitar bulan Juni yang mencapai + 2 ton per-orang kemudian dikirim ke pengumpul yang berasal dari kecamatan Langgudu. Proses pemanenan Kahanggo di Kolo berbeda dengan di Karumbu, petani tidak memotong tetapi mencabut sampai akarnya (hasil

wawancara dengan bapak Salahuddin petani rumput laut Kelurahan Kolo tanggal 20 Juli 2011). Oleh sebab itu dibutuhkan penanganan lebih lanjut dari berbagai pihak karena pertumbuhan Alga sangat dipengaruhi oleh musim, umur, spesies, dan lokasi geografis (Rioux et al.2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut banyaknya kandungan selulosa dalam sargassum, besarnya kadar bioetanol hasil fermentasi Sargassum, dan manfaat dari bioetanol tersebut, maka penting kiranya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan kadar bioetanol Sargassum melalui kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan alternatif tentang pemanfaatan Sargassum menjadi bahan yang dapat dimanfaatkan dalam bidang industri, khususnya yang berhubungan dengan alkohol/etanol.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol *Sargassum* dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase, maka dapat dirumuskan permasalahan, berapa persen kadar bioetanol Sargassum dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase yang berasal dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger*.

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan asumsi bahwa kadar bioetanol Sargassum dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase, maka tujuan penelitian pada tahun kedua ini adalah untuk mengetahui berapa persen peningkatan kadar bioetanol tersebut dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim sellulase yang berasal dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger*.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penelitian yang Relevan

Sari, Ahyar Ahmad, Hanapi Usman (2011) yang meneliti tentang Produksi Bioetanol dari Sellulosa Alga Merah dengan Sistem Fermentasi Simultan menggunakan Bakteri *Clostridium acetobutylicum* dengan kesimpulan bahwa kondisi optimum fermentasi terdapat pada pH 6 dan waktu fermentasi 10 hari dengan nilai konversi sellulose algae merah adalah 1 kilogram *Gracillaria verrucosa* menghasilkan 21,55% bioetanol dengan kemurnian 17,04%

2. Saputra, Ali Ridho, Ita Widowati (2012) yang meneliti tentang Kajian Rumput laut *Sargassum duplicatum* J.G Agardh sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi dengan kesimpulan bahwa kondisi terbaik hidrolisis dikonsentrasi H_2SO_4 0,4 M (28,051 mg/ml) dan waktu 120 menit (23,128 mg/ml. Selama proses fermentasi kadar bioetanol maksimum dicapai pada waktu inkubasi 72 jam, yaitu 0,04515v/v

Berdasarkan penelitian yang relavan tersebut menunjukkan bahwa alga berpotensi sebagai penghasil bioetanol dengan fermentasi menggunakan ragi. Hal yang baru dari penelitian ini yaitu bahwa pada tahun ;pertama akan dilakukan penghasilan bioetanol dari *Sargassum* dengan memanfaatkan enzim sellulase, kemudian pada penelitian tahun berikutnya akan diupayakan pemanfaatan bioetanol tersebut sebagai sumber energi.

B. Kajian Teori

Berikut sedikit gambaran dari *Sargassum*

1. *Sargassum*

a. Karakteristik

Adapun karakteristik dari *sargassum* yaitu bentuk talus seperti pohon dengan bentuk utama pipih, mempunyai bagian seperti daun di sisi samping, kantong udara berbenyuk bulat, reseptakel mempunyai modifikasi cabang yang berbentuk bulat, konseptakel terdapat di ujung cabang-cabang, hidup di daerah litoral dan sublitoral, hidup melayang di

air atau melekat pada substrat. Sargassum yang hidup melayang tidak dapat bereproduksi secara seksual tetapi dapat melakukan fragmentasi (Erna, 2011). Pada Saat reproduksi alga ini memiliki stadia gamet atau zoospora berbulu cambuk seksual dan aseksual, mempunyai pigmen khlorofil a dan c, beta karoten, Violasantin dan Fukosantin dengan persediaan makanan hasil fotosintesis berupa laminaran (Beta, 1-3 ikatan glukukan). Pada bagian dalam dinding selnya terdapat asam alginik dan alginat. mengandung pirenoid dan tilakoid (lembaran fotosintesis) Ukuran dan bentuk thalli beragam dari yang berukuran kecil sebagai epifit, sampai yang berukuran besar, bercabang banyak, berbentuk pita atau lembaran, cabang ada yang sederhana dan ada pula yang tidak bercabang (Anonim, 2009).

Salah satu spesies Sargassum yang berpotensi dan berada pada perairan di Kabupaten dan Kota Bima yaitu jenis *Sargassum polycystum* seperti pada Gambar 1 di bawah ini :



Gambar 1. *Sargassum polycystum*

b. Klasifikasi

Algae Sargassum merupakan salah satu dari jenis ganggang coklat pada kelas Phaeophyceae. Ada 150 jenis marga Sargassum yang dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin (Nizamuddin,1970).

Di perairan Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis

algae *Sargassum* dan yang telah dikenal mencapai 12 jenis. Sedangkan di perairan Indo-Pasifik tercatat 58 jenis (BOSSE 1928). *Sargassum* di berbagai daerah di Indonesia mempunyai sebutan nama yang berbeda-beda di NTB khususnya di Bima dinamakan Gose. Algae *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun karena bersifat perenial atau setiap musim barat maupun timur dapat dijumpai di berbagai perairan. Berdasarkan Klasifikasi Menurut Abbot (1978) yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Phaeophyta
Classis	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Familia	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Species	: <i>Sargassum</i>

(Anonim, 2009)

c. Habitus

Lingkungan tempat tumbuh algae *Sargassum* terutama di daerah perairan yang jernih yang mempunyai substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik dan benda-benda yang bersifat *massive* yang berada di dasar perairan (Anonim, 2010). Algae *Sargassum* tumbuh dari daerah intertidal, subtidal sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus deras. Kedalaman untuk pertumbuhan dari 0,5 – 10 m dan tumbuh subur pada daerah tropis dengan suhu perairan 27,25 – 29,30 °C dan salinitas 32–33,5 %. Kebutuhan intensitas cahaya matahari marga *Sargassum* lebih tinggi dari pada marga algae merah. Boney (1965) menyatakan pertumbuhan *Sargassum* membutuhkan intensitas cahaya matahari berkisar 6500 – 7500 lux. Algae *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang. Panjang thalli utama mencapai 1 – 3 m dan tiap-tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut Bladder berguna untuk menopang cabang-cabang thalli terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari

d. Sebaran

1) Daerah pantai (*beach/tide pool area*)

Pada di daerah pantai yang berpasir, jarang ditemukan adanya Sargassum kecuali pantai yang berbatu dikarenakan tempat hidup yang ideal dari Sargassum adalah bebatuan didalam air laut terutama jenis *Sargassum Polycystrum*.

2) Paparan terumbu (*reef flats*)

Daerah paparan terumbu merupakan bagian habitat algae Sargassum. Pada substrat paparan yang berbatu karang merupakan tempat untuk melekatkan thalli selama pertumbuhan berlangsung dan sebagai tempat melekat perkecambahan spora. Paparan terumbu yang berasal dari batuan vulkanik dan batu karang boulder sering dijumpai lekukan dan parit (moat) daerah ini berombak besar dan arus deras. Pertumbuhan Sargassum kebanyakan dari jenis Sargassum binderi dan Sargassum duplicatum, biasanya kerangka thalli sangat kuat, thalli utama berbentuk gepeng, permukaan halus dan licin. Secara umum bahwa pertumbuhan algae Sargassum yang dominan didaerah paparan terumbu adalah jenis *Sargassum polycystum*, *Sargassum echinocarpum* dan *Sargassum crassifolium*.

3) Punggung terumbu (*ridge*)

Di perairan pantai di Indonesia punggung terumbu kadang-kadang ada yang berpunggung terumbu dan tidak berpunggung terumbu. Punggung terumbu ini terbentuk dari algae kalkareous dari marga Porolithon atau terbentuk dari bongkahan karang yang telah mati. Daerah sekitar dinding punggung terumbu ini merupakan tempat tumbuh algae Sargassum, banyak dijumpai dari jenis *Sargassum polycystum* dan *Sargassum echinocarpum*. Pada waktu surut rendah rumpunan Sargassum mengalami perebahan dan saling bertumpang tindih dengan rumput laut jenis lainnya.

4) Tubir (*reef slope*)

Daerah tubir merupakan tempat tumbuh algae *Sargassum* dari jenis yang berthalli panjang 1 – 3 m. Pertumbuhan berasosiasi dengan karang hidup dan bonggol thalli (*holdfast*) menempel pada bagian karang yang telah mati dan lapuk. Pola pertumbuhan algae *Sargassum* di daerah tubir thalli dalam rumpun yang besar secara “Heliocentris” tertuju ke arah permukaan untuk mendapatkan sinar matahari yang lebih banyak. Pada waktu air surut keberadaan *Sargassum* di daerah tubir dapat diketahui dengan melihat gerombolan cabang thalli yang terapung di atas permukaan air. Kemampuan daya apung ini didukung oleh kantong gelembung udara yang terletak diketiak percabangan thalli utama. Pada umumnya algae *Sargassum* tumbuh di daerah tubir mempunyai karakteristik thalli utama sangat kuat, bentuk pipih dan daun licin halus berlendir. Jenis yang tumbuh di daerah tubir meliputi *Sargassum binderi*, *Sargassum cinereum*, *Sargassum plagyophyllum* dan *Sargassum crassifolium*.

5) Goba (*lagoon*)

Daerah Goba merupakan tempat hidup dari semua jenis makro algae yang kebanyakan tumbuh di bibir goba terutama karang mati yang telah lapuk. Makro algae banyak yang berasosiasi dengan karang hidup, lamun dan biota lainnya. Perairan goba juga merupakan daerah interaksi dalam siklus rantai antar flora dan fauna yang hidup bersama baik sebagai “produser” maupun “predator”. Marga *Sargassum* termasuk rumpun yang paling besar diantara marga rumput laut, sehingga keberadaan dalam perairan goba merupakan tempat asuhan dan berlindung biota kecil, karena arus dan ombak relatif tenang. Di daerah goba pertumbuhan makro algae reproduksinya melalui spora. Algae *Sargassum* yang tumbuh dominan diperairan ini meliputi *Sargassum polycystum*, *Sargassum echinocarpum*, *Sargassum molleri* dan *Sargassum gracilimum*.

e. Kandungan kimia

Kandungan bahan kimia utama sebagai sumber alginat dan mengandung protein, vitamin C, tannin, iodine, phenol sebagai obat gondok, anti bakteri dan tumor (Trono & Ganzon, 1988).

Alginat merupakan molekul linier dengan berat molekul tinggi, sehingga mudah sekali menyerap air. Oleh karena itu, alginat baik sekali fungsinya sebagai bahan pengental. Secara kimia, alginat merupakan polimer murni dari asam uronat yang tersusun dalam bentuk rantai linier yang panjang (Winarno 2008). Bobot molekul alginat bervariasi, tergantung dari jenis alginat, sumber bahan baku yang digunakan dan cara penyiapan bahan baku. Bobot molekul alginat berkisar antara 350.000-1.500.000, sedangkan alginat yang diperdagangkan berkisar antara 22.000-200.000 dengan tingkat polimerisasi 180-930. Adapun komposisi kimia *Sargassum* sp. berdasarkan hasil penelitian Luhur (2006) dapat dilihat pada Tabel 1 berikut :

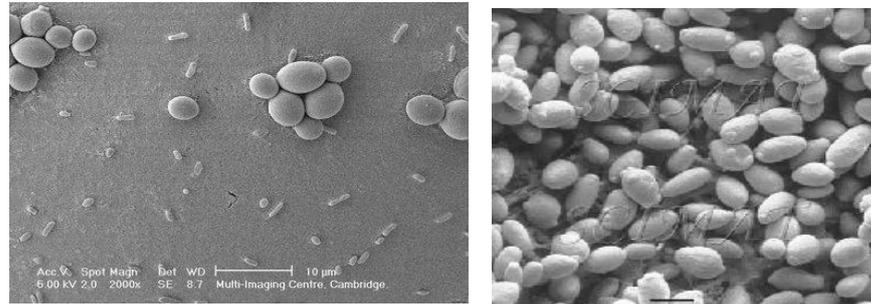
Tabel 1. Komposisi Sargassum

No	Komposisi kimia	Persentase (%)
1	Karbohidrat	19,06
2	Protein	5,53
3	Lemak	0,74
4	Air	11,71
5	Abu	34,57
6	Serat kasar	28,39

Sumber : Roswien (1991) diacu dalam Luhur (2006)

2. *Saccharomyces cerevisiae*

Secara morfologi, *S. cerevisiae* adalah khamir eukaryotik berbentuk bulat (*coccus*) dengan ukuran 5-10 micrometer yang berkembang biak secara vegetatif (pertunasan) dan toleransi terhadap kadar etanol yang tinggi (Sardjoko, 1991). Morfologi *S. cerevisiae* sesuai Gambar 2 berikut :



Gambar 2. Morfologi *Saccharomyces cerevisiae*

(Williams, 2008)

Dalam taksonomi, *Saccharomyces cerevisiae* di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Ascomycota
Subdivisio	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycotales
Familia	: Saccharomycetaceae
Genus	: Saccharomyces
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Menurut Buckle dkk (1987) bahwa *Saccharomyces cerevisiae* berperan dalam fermentasi yang bersifat etanolis dimana produk utama dari metabolisemenya adalah etanol.

Menurut Narita (2005), *S.cerevisiae* merupakan mikroorganisme aman (*Generally Regarded as Safe*) yang tidak saja digunakan dalam bidang fermentasi tradisional seperti makanan, minuman misalnya tempe, tape, dan tuak tetapi menjadi sel inang dalam pembuatan *low volume, high value* produk bioteknologi, misalnya bahan-bahan kimia, protein terapi, produk *pharmaceutical* agrikultur, biofuel, industri enzim.

a. Karakteristik *S. cerevisiae*

Adapun karakteristik penting *S.cerevisiae* apabila digunakan dalam fermentasi sebagai berikut :

- 1) mampu tumbuh dengan cepat pada suatu substrat, kondisi lingkungan yang cocok dan mudah untuk di biakkan dalam jumlah besar.
- 2) memiliki kemampuan untuk mengatur ketahanan fisiologis dan menghasilkan enzim-enzim esensial dengan mudah agar perubahan kimia yang dikehendaki dapat terjadi.
- 3) Kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan dan produksi maksimum secara komparatif sederhana.

(Desrosier, 2008)

- 4) Stabil dan dapat menghasilkan produk yang diinginkan dalam jangka waktu yang pendek.
- 5) Mampu memproduksi produk yang diinginkan tanpa menghasilkan produk yang lain yang bersifat beracun. Produk yang diinginkan dapat dengan mudah dipisahkan dari senyawa atau bahan-bahan lainnya.
- 6) Mampu disimpan untuk jangka waktu yang lama. (Sa'id, 1987)

3. Fermentasi

Fermentasi adalah proses oksidasi biologi dalam keadaan fakultatif. Tidak semua organisme melakukan fermentasi untuk memperoleh sumber energi, pada organisme tingkat tinggi, untuk memperoleh energi dilakukan respirasi aerob yaitu respirasi yang menggunakan oksigen tetapi untuk mikroorganisme pada umumnya melakukan fermentasi karena tidak membutuhkan oksigen guna menghasilkan etanol (Suhartanti, 2007). Pada sel *S.cerevisiae* bila tersedia cukup oksigen, maka sel akan melakukan respirasi, sedangkan apabila tidak cukup oksigen maka akan terjadi fermentasi artinya sel *S.cerevisiae* dapat menyesuaikan hidupnya untuk dapat bertahan hidup (Sukarno dan Amin, 1996).

Etanol hasil fermentasi sering dipakai untuk menyebut etanol, atau *grain etanol* dalam kimia dapat diistilahkan dengan senyawa organik yang

memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada atom karbon, dan berikatan pada atom hidrogen atau atom karbon lain (Anonim, 2007).

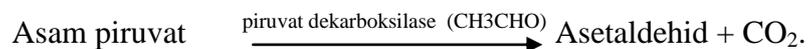
Etanol merupakan produk fermentasi dari karbohidrat (gula, pati, selulosa) yang bermanfaat dalam bidang industri sebagai sumber bahan bakar, penerangan atau pembangkitan tenaga, sebagai pelarut bahan kimia, obat-obatan, deterjen, oli, lilin, dan di bidang kedokteran, laboratorium, serta keperluan rumah tangga (Narita, 2005).

Sebelum terjadinya proses fermentasi etanol, selulosa dan glukosa sebagai substrat yang terdapat pada Sargassum, terlebih dahulu akan dirubah menjadi 2 molekul piruvat dalam proses glikolisis dengan menghasilkan 2 ATP (Priyo, 2007). Glikolisis adalah proses penguraian karbohidrat atau selulosa menjadi piruvat juga disebut dengan jalur metabolisme *Embden-Meyerhoff* (Wirahadikusumah, 2002).

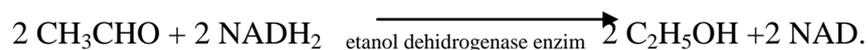
Asam piruvat hasil glikolisis akan diubah menjadi asetaldehida oleh enzim piruvat dekarboksilase (enzim yang tidak terdapat dalam hewan) dan reaksi reduksi asetaldehid menjadi etanol (Wirahadikusumah, 2002). Dari uraian diatas, reaksi fermentasi etanol secara ringkas dapat ditunjukkan sebagai berikut :

1) Gula ($C_6H_{12}O_6$) \longrightarrow asam piruvat (glikolisis)

2) Dekarboksilasi asam piruvat.



3) Asetaldehid oleh etanol dihidrogenase diubah menjadi etanol



Ringkasan reaksi



(Anonim, 2000)

Adapun kelebihan dari bioetanol jika dibandingkan dengan bensin menurut Tata (2007) adalah :

- a. Bioetanol aman digunakan sebagai bahan bakar, titik nyala etanol 3 kali lebih tinggi jika dibandingkan dengan bensin
- b. Emisi karbon lebih sedikit

Kekurangan bioetanol jika dibandingkan bensin

- a. Mesin dingin lebih sulit melakukan starter
- b. Bioetanol bereaksi dengan logam magnesium dan aluminium

Oleh sebab itu penggunaan dari bioetanol harus digalakkan karena menurut (Rama Prihadana, 2007) akan mengurangi kecenderungan pemanasan global dan pencemaran udara karena kandungan oksigen membuat pembakaran sempurna sehingga meminimalisir gas buang kendaraan dengan kadar karbondioksida dapat ditekan hingga 19%-25%.

4. Faktor yang mempengaruhi fermentasi

Faktor keberhasilan fermentasi sangat ditentukan jenis bahan pangan (substrat). Mikroorganisme membutuhkan energi yang berasal dari karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan zat-zat gizi lainnya yang ada dalam bahan pangan tersebut. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan dalam fermentasi adalah :

- c. Mikroorganisme

Mikroorganisme yang harus digunakan adalah mikroorganisme yang tergolong unggul, stabil artinya tidak berubah atau mengalami mutasi walaupun dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, dan bukan patogen artinya mikroorganisme yang digunakan tidak akan menyebabkan penyakit. Semakin besar mikroorganisme yang dibutuhkan maka semakin besar pula kadar etanol yang dihasilkan (Hidayat, 2007).

- d. Suhu

Tiap-tiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan yang optimum sehingga pengaturan suhu suatu substrat merupakan suatu kendali yang positif terhadap pertumbuhannya. Untuk memperoleh hasil yang maksimum selama fermentasi, harus diciptakan kondisi suhu yang optimum bagi pertumbuhan mikroorganisme tersebut, umumnya suhu pertumbuhan untuk khamir berkisar antara 25°C-47°C (Desrosier, 2008). Menurut Sa'id, (1987) suhu yang baik untuk proses

fermentasi adalah dibawah 30°C, makin rendah suhu fermentasi makin tinggi etanol yang dihasilkan.

e. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, menurut Desrosier (2008), pH optimum berkisar antara 3-7 dan akan terjadi penurunan pH yaitu menjadi asam setelah proses fermentasi karena adanya asam-asam organik sebagai hasil reaksi yang dihasilkan. Pada pembuatan anggur, Sa'id (1987) mengatakan bahwa pH optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 4,0-4,5.

f. Substrat

Mikroorganisme dalam fermentasi harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungannya, substrat dalam hal ini berarti sumber makanan bagi mikroorganisme yang terdapat dalam bahan pangan yang mengandung sakarin, selulosa, dan bahan yang berpati (Suhartanti, 2006).

g. Oksigen

Jumlah oksigen dapat mempengaruhi pola kerja dari mikroorganisme karena mikroorganisme memiliki pembagian jenis berdasarkan jumlah oksigen, ada yang bersifat aerob, anaerob, fakultatif maupun obligat sehingga apabila mikroorganisme tidak bekerja pada jumlah oksigen yang sesuai maka hasil yang diperoleh tidak maksimal (Suhartanti, 2006).

h. Waktu fermentasi

Untuk menghasilkan kadar etanol yang optimal seperti pada pembuatan anggur, waktu yang dibutuhkan adalah 3-6 hari dalam 100 gram substrat dengan kadar etanol yang dihasilkan antara 45%-47%, karbondioksida 49% dan sisanya dirubah menjadi substansi lain (Desrosier, 2008).

BAB III. METODE PENELITIAN

Tahun Kedua: Pembuatan Bioetanol dari *Sargassum* dengan memanfaatkan enzim selulase.

A. Alat dan Bahan

1. Alat

a Alat pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

Alat yang digunakan pada pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae* adalah, tabung reaksi, ose mata, lampu spiritus dan inkubator.

b Alat yang digunakan untuk pembuatan filtrat substrat *Sargassum*

Alat yang digunakan pada pembuatan filtrat substrat *Sargassum* adalah baskom, timbangan analitik, pisau *stainless*, kompor listrik, blender, pengaduk, gelas ukur, pH *universal*, kain saring, panci *stainless steel*, erlenmeyer, oven, dan autoklaf.

c Alat pengukuran kadar Gula reduksi

Tabung reaksi, vorteks, spektrofotometer UV-VIS

d. Alat pengukuran kadar etanol

Alat yang digunakan dalam pengukuran kadar etanol adalah *Gas Chromatography* (GC-14B) Shimadzu FID, kolom *Porapak Q* (80%;170 oC). Detektor (*FID/ hydrogen flame ionization detector*) alat Chromatopac C-R6A (Shimadzu) (Febriani, dkk, 2014).

2. Bahan

a Bahan penumbuhan kultur murni *Saccharomyces cerevisiae* media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

b Bahan pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

Bahan yang digunakan adalah kultur murni *Saccharomyces cerevisiae*.

c Bahan yang digunakan untuk pembuatan filtrat substrat *Sargassum*

Bahan yang digunakan pada pembuatan filtrat substrat Sargassum adalah Sargassum dan aquades

d Bahan Pengukuran Kadar Gula reduksi

reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*).

e Bahan pengukuran kadar etanol

Bahan yang digunakan dalam pengukuran kadar etanol adalah gas pembakar H₂ 100 kpa dan gas pembawa N₂ 300 kpa.

B. Langkah Kerja

1. Persiapan alat dan bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu di laboratorium sebelum penelitian dilakukan. Alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf dan oven, khusus ose dipijarkan diatas lampu spirtus (Riadi, 2007).

2. Perbanyakkan *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesai*

Masing-masing kultur fungi ditumbuhkan pada media PDA, diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (Safaria, 2012).

3. Preparasi dan Delignifikasi Sampel

Sargassum dikeringkan pada suhu 105 °C. Selanjutnya dibuat serbuk. Sebanyak 60 gram dimasukkan ke dalam erlenmayer 1000 mL, ditambah dengan larutan NaOH 1 % lalu diaduk selama 2 jam dengan kecepatan 150 rpm (Sukardati dkk., 2010).

4. Pembuatan kultur *Saccharomyces cerevisiae*

- a Dilakukan persiapan awal meliputi penyemprotan daerah kerja dengan alkohol 70%, pembakaran bunsen, disiapkan inkubator suhu 29°C, ose mata dan infusa kentang.
- b Diambil kultur *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 2 ose kemudian dimasukkan ke dalam Medium PDA setelah itu diinkubasikan selama 7 hari.

5. Produksi enzim

Sebanyak 5 gram serbuk Sargassum dimasukkan dalam erlenmayer 250 ml dan ditambahkan 25 mL larutan nutrisi dan ditutup. Campuran media disterilkan pada suhu 121 °C selama 20 menit kemudian didinginkan. Masing-masing kultur *A. niger* dan *T.reesai* diinokulasikan pada media. *T.reesai* diinkubasi selama 6 hari sedangkan *A.niger* diinkubasi selama 8 hari (Anwar dkk., 2010).

6. Ekstraksi Enzim

Dituangkan 100 mL larutan 0,1 % tween 80 ke dalam serbuk Sargassum yang sudah difermentasi dan diaduk pada 150 rpm selama 120 menit. Larutan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan sebagai ekstrak enzim kasar (Szeendefy et. al., 2006).

7. Uji Aktivitas Enzim metode Fenol-Sulfat.

Sebanyak 1 mL buffer Na-sitrat 0,05 M pH 4,8 dan satu strip kertas saring Whatman ukuran 1 x 6 cm dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan dipanaskan pada suhu 50 °C selama 1 menit. Masing-masing ekstrak enzim kasar *A. niger* dan *T.reesai* dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 0,5 mL. Larutan dipanaskan pada suhu 50 °C selama 1 jam, kemudian diambil kertas saring dari tabung reaksi (Adney dan Baker, 1996). Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan fenol 5 % dan 2,5 mL H₂SO₄ pekat kemudian dihomogenkan. Larutan dilakukan pengenceran dengan penambahan buffer Na-sitrat. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 495 nm (Dubois et.al., 1956). Aktivitas enzim cellulase dihitung seperti persamaan 1 (Kamila, 2003).

$$\text{Aktivitas enzim cellulase (U/mL)} = \frac{G \times Fp}{t} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

G = Glukosa yang dihasilkan

Fp = Faktor pengenceran

t = waktu inkubasi

Konsentrasi glukosa yang didapat diplot pada persamaa kurva kalibrasi.

8. Tahap Hidrolisis Sargassum

a. Enzim cellulase dari *A. niger*

A. niger dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%, 9%, dan 11% dimasukkan ke dalam Erlenmayer yang telah berisi 5 gram serbuk Sargassum dan ditambahkan aquades hingga volume 150 mL, kemudian diaduk dengan kecepatan 160 rpm, diukur pH awal. Diatur pH dengan penambahan 0,1 M HCl atau 0,1 M NaOH hingga diperoleh pH 4,5 dan 6 kemudian dipanaskan pada suhu 40 °C. Setelah itu dianalisis kadar glukosa pada waktu 0, 2,4,6, dan 8 jam (Anwar dkk., 2010).

b. Enzim cellulase dari *Trichoderma reesei*

Trichoderma reesei dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%, 9%, dan 11% dimasukkan ke dalam Erlenmayer yang telah berisi 5 gram serbuk Sargassum dan ditambahkan aquades hingga volume 150 mL, kemudian diaduk dengan kecepatan 160 rpm, diukur pH awal. Diatur pH dengan penambahan 0,1 M HCl atau 0,1 M NaOH hingga diperoleh pH 4,5 dan 6 kemudian dipanaskan pada suhu 40 °C. Setelah itu dianalisis kadar glukosa pada waktu 0, 2,4,6, dan 8 jam (Anwar dkk., 2010).

c. Kombinasi *T. reesei* dan *A. niger*

Kombinasi *T. reesei* dan *A. niger* masing masing dengan perbandingan 1:0 ; 1:1; 2:1; 3:1; *A. niger* : *T. reesei* masing-masing dengan perbandingan 1: 0; 2:1; 3:1 masing-masing dimasukkan ke dalam Erlenmayer yang telah berisi 5 gram serbuk Sargassum dan ditambahkan aquades hingga volume 150 mL, kemudian diaduk dengan kecepatan 160 rpm, diukur pH awal. Diatur pH dengan penambahan 0,1 M HCl atau 0,1 M NaOH hingga diperoleh pH 4,5 dan 6 kemudian dipanaskan pada suhu 40 °C. Setelah itu dianalisis kadar glukosa pada waktu 0, 2,4,6, dan 8 jam (Anwar dkk., 2010).

9. Pengukuran Gula Reduksi

Larutan hasil hidrolisis dianalisa kadar gula reduksinya dengan menambahkan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*). Sampel hasil hidrolisis diambil sebanyak 250 µl kemudian ditambahkan 500 µl reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudia divortex. Larutan yang telah homogen ditutup menggunakan kelereng, kemudian ditempatkan pada pemanas air suhu 100°C selama 5 menit, setelah itu larutan didinginkan dan ditambahkan aquadest sebanyak 5000 µl dan kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Penambahan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) bertujuan untuk membentuk asam 3-amno-5-nitrosilicylic yang menyerap cahaya kuat pada saat pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 540 nm (Miller, 1959). (Febriani, dkk, 2014).

10. Penyiapan Inokulum Yeast

Isolat yeast diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM diremajakan dengan cara memindahkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang berada di cawan petri dan diinkubasi selama 48 jam. Untuk mengetahui pertumbuhan yeast, dibuat kurva pertumbuhan dengan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) dengan komposisi : 100 ml ekstrak kentang dengan menambahkan 2 gram dextrose, inkubasi selama 24 jam, kemudian diukur kepadatan sel menggunakan *spektofotometer* dengan panjang gelombang 600 nm. Suspensi yeast diinokulasikan sebanyak 10 % ke dalam media fermentasi.

11. Fermentasi

Proses fermentasi Filtrat Sargassum Sebanyak sembilan puluh mililiter larutan hasil hidrolisis (pH 4,5) dimasukkan dalam botol fermentasi, seratus mililiter aquadest disiapkan dalam botol yang berbeda, kemudian sampel dimasukkan kedalam *Autoclave*, *Autoclave* digunakan untuk sterilisasi larutan pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya, larutan dipindahkan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) untuk diinokulasi

yeast. 10% inokulan yeast *S. Cerevisiae* dimasukkan dalam botol yang berisi hasil hidrolisis. Inkubasi dilakukan diatas magnetik strirer. Fermentasi selama 48 jam (2 hari), 96 jam (4 hari), 192 jam (6 hari).

12. Pengukuran Kadar Bioetanol

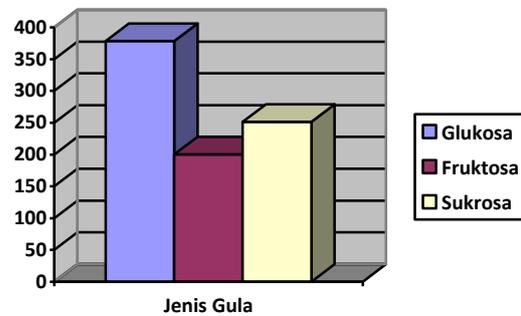
Pengukuran kadar bioetanol dilakukan menggunakan *Gas Chromatography* (GC-14B) Shimadzu FID system. GC dioperasikan pada tekanan udara 100 kpa, gas pembakar H₂ 100 kpa dan gas pembawa N₂ 300 kpa. Untuk memulai pengukuran, setiap 1 µl standart atau sampel diinjeksikan pada injektor suhu 170 °C, yang dilengkapi kolom *Porapak Q* (80%;170 °C). Detektor (*FID/ hydrogen flame ionization detector*) dipasang pada suhu 170 oC. Hasilnya dicatat pada alat Chromatopac C-R6A (Shimadzu) (Febriani, dkk, 2014).

13. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) Versi 18.0. Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis *General linear model* (GLM) *Repeated measures* dan analisis ragam (Anova) pada taraf kepercayaan 95 persen ($P < 0,05$). Jikahasil analisis ragam berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kepercayaan 95%.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

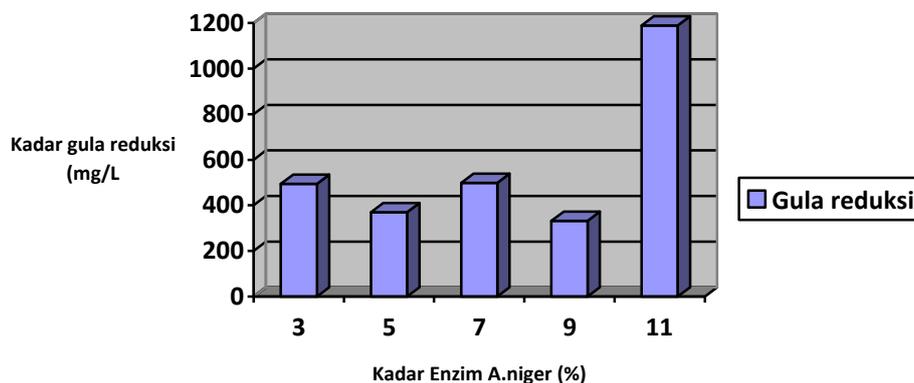
1. Hasil Analisis kadar gula *Sargassum* diperoleh hasil sebagai berikut



Gambar 3. Hasil pengukuran gula pada *Sargassum*

Berdasar hasil analisis tersebut terlihat bahwa kadar gula tertinggi adalah glukosa yaitu 378,56%.

2. Hasil pengukuran gula reduksi setelah perlakuan dengan enzim yang berasal dari *Aspergillus niger*

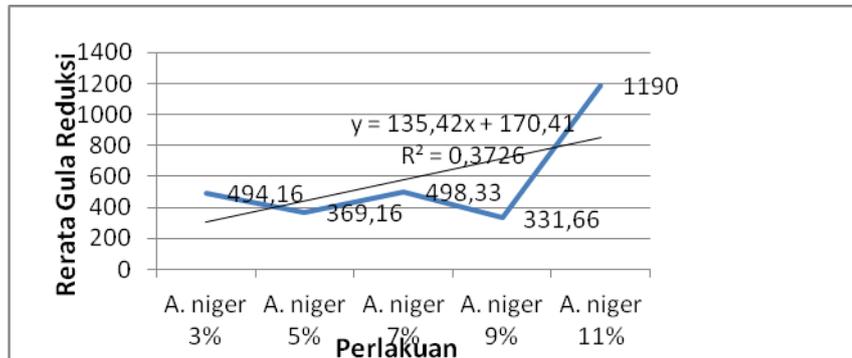


Gambar 4. Hasil pengukuran gula reduksi setelah perlakuan dengan *Aspergillus niger*

Berdasar hasil pengukuran gula reduksi terlihat bahwa terdapat kenaikan kadar gula setelah perlakuan dengan enzim dari *A.niger* hingga mencapai 1190 mg/L. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi proses penguraian

sellulosa menjadi gula reduksi akibat kerja enzim sellulase dari *A.niger*. Hal tersebut sesuai pendapat dari Subowo (2010) *Aspergillus niger* dapat meningkatkan kadar gula reduksi akibat enzim yang dihasilkannya.

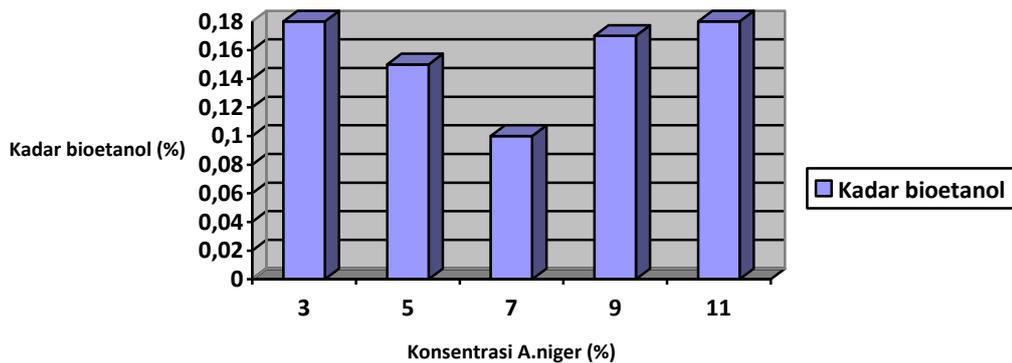
Berdasar Gambar 4 dilakukan uji regresi pengaruh kadar enzim dari *Aspergillus* terhadap gula reduksi.



Gambar 5. Grafik Hasil uji regresi Kadar Enzim *Aspergillus niger* Terhadap Gula Reduksi.

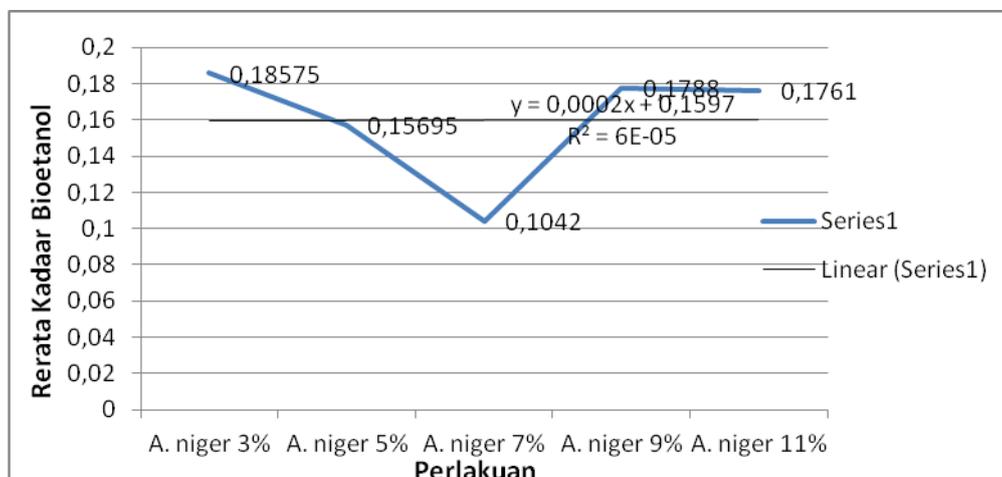
Berdasarkan Gambar 5. dapat diketahui bahwa semakin tinggi kadar enzim maka akan semakin tinggi kadar gula reduksi yang terkandung di dalamnya, walaupun sebenarnya pada perlakuan 5% dan 9% mengalami penurunan. Pada perlakuan 5% dan 9%. Kemudian dilakukan uji Anava dengan hasil $F_{hitung} = 2531,618$ dan $F_{tabel} 5,192$. oleh karena itu $F_{hitung} > F_{tabel}$, sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. hal ini menunjukkan bahwa kadar enzim menghasilkan gula reduksi yang berbeda. Selanjutnya dilakukan Uji BNT_(0.05) dengan hasil semua perlakuan menghasilkan perbedaan yang nyata.

3. Hasil Pengukuran kadar bioetanol Sargassum dengan perlakuan *A.niger* dan fermentasi dengan *Saccharomyces*



Gambar 6. Hasil pengukuran kadar etanol hasil fermentasi

Berdasar Gambar 6 terlihat bahwa kadar bioetanol tertinggi terdapat pada *Sargassum* dengan perlakuan *A.niger* 11% meskipun berdasar uji BNT 5% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara perlakuan *A.niger* 3%, 9%, dan 11%. Hal tersebut mungkin disebabkan karena fermentasi *Sargassum* dengan bantuan *Saccharomyces* mungkin hanya mengubah gula yang berupa glukosa saja dan mungkin dalam fermentasi tersebut tidak dapat secara maksimal mengubah glukosa tersebut menjadi etanol secara keseluruhan yang disebabkan adanya kandungan serat yang liat yang terdapat pada *Sargassum*. Selanjutnya dilakukan uji regresi.



Gambar 7. Grafik Persamaan garis regresi antara kadar enzim *A. niger* dan waktu fermentasi dengan hasil rerata kadar Bietanol *Sargassum* sp.

Berdasarkan Gambar 7. dapat diketahui bahwa semakin tinggi kadar *Sacharomyces* maka semakin besar pula kadar bioetanol yang terkandung di dalamnya, pada kenyataannya pada perlakuan 5% dan perlakuan 7% mengalami penurunan. Pada perlakuan 7% penurunan terjadi karena dimungkinkan proses inkubasi yang kurang sempurna, yang disebabkan karena proses inkubasi yang terlalu lama sehingga uap bioetanol tidak mengalami kondensasi. Pada perlakuan 7% bioetanol yang terbentuk mengalami degradasi yang disebabkan telah habisnya nutrisi di substrat, dan bereaksinya bioetanol dengan *Saccharomyces* yang justru bersifat toksik terhadap *Saccharomyces cerevisiae*, yang berakibat matinya organisme dalam *Saccharomyces cerevisiae*, sehingga tidak berjalannya proses fermentasi yang mengubah substrat menjadi bioetanol, kemudian menyebabkan menurunnya kadar bioetanol.

Selanjutnya dilakukan uji Anava dengan hasil perhitungan diketahui $F_{hitung} = 70,135$ dan $F_{tabel} 5, 19$. oleh karena itu $F_{hitung} > F_{tabel}$, sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. hal ini menunjukkan bahwa kadar enzim menghasilkan kadar bioetanol yang berbeda. Selanjutnya untuk mengetahui letak perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (0.05) dengan hasil bahwa semua perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata.

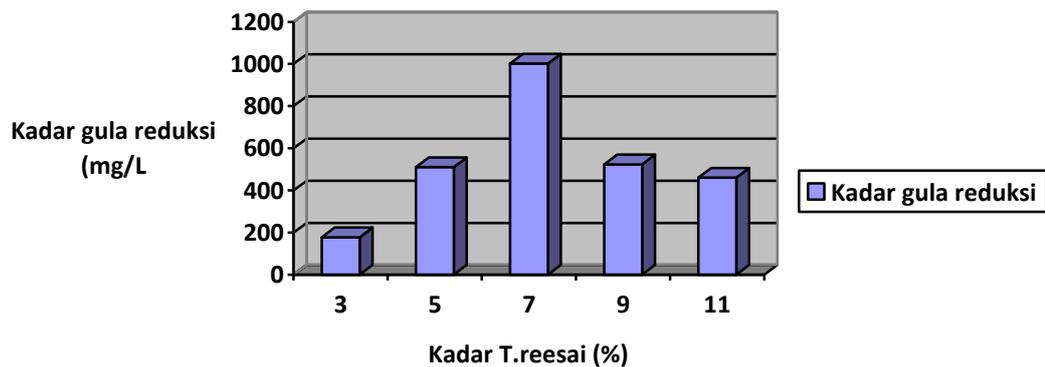
Dari Gambar 7. Dapat dilihat bahwa kadar bioetanol tertinggi yaitu sebesar 3%, 9% dan 11%. Hal tersebut berdasarkan kepada penelitian yang dilakukan oleh Khaira dkk. (2015). Semakin banyak enzim selulase yang ditambahkan maka kadar bioethanol yang dihasilkan semakin tinggi. Kadar bioetanol tertinggi didapat pada kadar 3%, 9% dan 11% pada waktu fermentasi 3 hari. Kadar enzim selulase berpengaruh terhadap perolehan bioetanol dengan menggunakan substrat yang sama, karena enzim selulase kasar akan mempercepat proses hidrolisis sehingga lebih banyak gula yang tersedia untuk difermentasikan menjadi bioetanol. Khaira dkk. (2015) menyatakan bahwa hidrolisa dinding selulosa oleh enzim selulase telah meningkatkan jumlah glukosa sehingga *S. cerevisiae* akan memfermentasi glukosa dengan jumlah yang lebih besar dan menghasilkan kadar bioetanol yang lebih tinggi sebagai

hasil fermentasinya. Selain dari pada itu bahwa di dalam *Sargassum* tidak hanya terdapat glukosa saja melainkan ada sukrosa dan fruktosa juga.

Pada hasil penelitian ini, penambahan kadar *Saccharomyces cerevisiae* dan waktu fermentasi meningkatkan kadar bioetanol yang dihasilkan. Peningkatan kadar bioetanol pada proses fermentasi ini disebabkan oleh aktivitas enzim invertase dan zymase yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* untuk mengkonversi gula sederhana menjadi CO_2 . Hal ini sesuai dengan pernyataan Azizah (2012) yang menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan bioetanol yang berasal dari fermentasi gula. Gula akan diubah menjadi bentuk yang paling sederhana oleh enzim invertase baru kemudian gula sederhana tersebut akan dikonversi menjadi etanol dengan adanya enzim zymase.

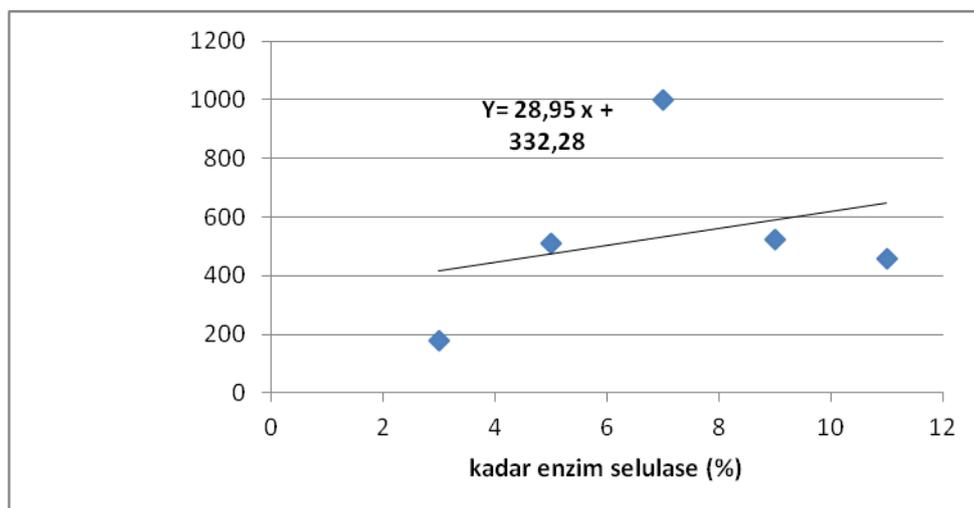
Untuk mengetahui kondisi terbaik bioetanol yang dihasilkan, yaitu kondisi pada saat dihasilkan kadar bioetanol tertinggi dibutuhkan waktu fermentasi yang optimum. Waktu fermentasi adalah waktu yang dibutuhkan *yeast S. cerevisiae* untuk mengubah glukosa hasil hidrolisis menjadi bioetanol. Waktu fermentasi yang divariasikan akan mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Waktu proses fermentasi tergantung kepada bahan dan jenis produk yang akan dihasilkan (Febriani, 2012), meskipun demikian produksi bioetanol tidak lepas dengan fase pertumbuhan *S. cerevisiae* sebagai mikrobia yang menjadi agen pendegradasi gula menjadi bioetanol dan enzim sebagai zat sekresi yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae*. Lama fermentasi berlangsung selama 3 hari hal ini dikarenakan pada proses fermentasi yang telah berusia 3 hari telah terjadi perombakan gula menjadi alkohol (Febriani, 2012). Pada usia fermentasi 3 hari jumlah mikrobia dan enzim yang disekresikan pada jumlah yang sangat tinggi dan semakin lama fermentasi, maka aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* sebagai mikrobia yang menjadi agen pendegradasi gula menjadi bioetanol juga semakin menurun (Febriani, 2012).

4. Hasil pengukuran gula reduksi setelah perlakuan dengan enzim yang berasal dari *Trichoderma reesei*



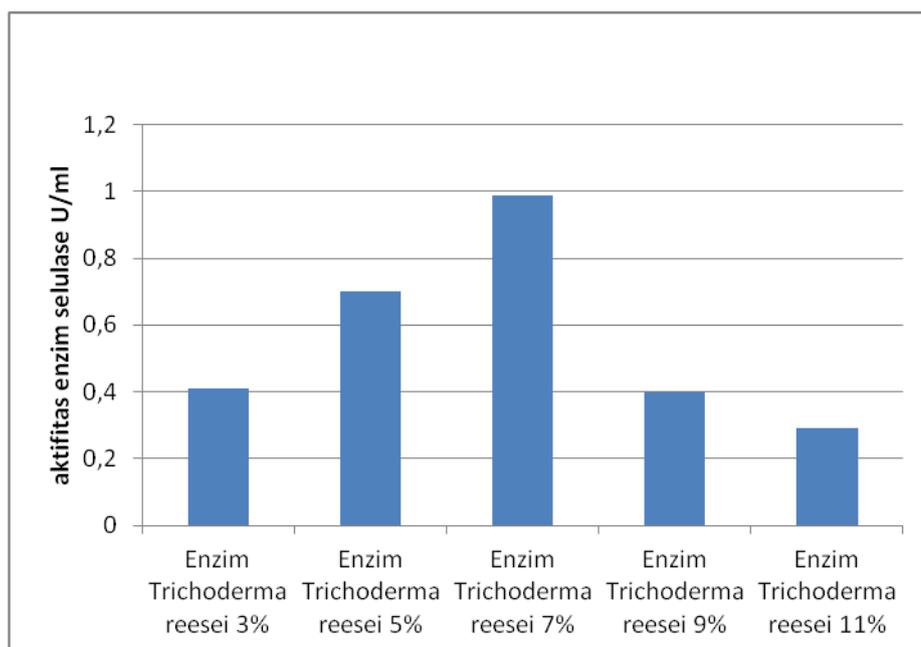
Gambar 8. Hasil pengukuran gula reduksi *Sargassum* setelah perlakuan dengan *T. reesei*.

Berdasar Gambar 8 terlihat bahwa gula reduksi tertinggi terdapat pada *Sargassum* setelah perlakuan dengan *T. reesei* dengan kadar 7% yaitu 1002,45 mg/L Hal tersebut sesuai dengan pendapat Kasmiran dan Tarmizi (2012) bahwa *T. reesei* merupakan kapang yang bersifat sellulolitik yang dapat mengubah selulosa menjadi gula sederhana.



Gambar 9. Grafik Regresi Pengaruh Kadar Enzim Selulase dari Jamur *Trichoderma reesei* Terhadap Gula Reduksi dari *Sargassum* sp.

Berdasarkan Gambar 9. Dapat diketahui bahwa semakin tinggi kadar enzim maka semakin tinggi pula gula reduksi yang dihasilkan, walaupun menurun pada kadar enzim 9 % dan 11 % . Menurut Seftian dkk (2012) kenaikan jumlah glukosa disebabkan karena kecepatan reaksi dipengaruhi oleh banyaknya selulosa yang ada. Sementara selulosa semakin lama semakin berkurang disebabkan pecah menjadi unit glukosa. Oleh karena itu kecepatan reaksi semakin lama semakin kecil sehingga kenaikan kadar selulosa yang terhidrolisa persatuan waktu semakin kecil.



Gambar 10. Grafik Pengaruh Kadar Enzim Selulase dari Jamur *Trichoderma reesei* Terhadap Aktifita Enzim selulase.

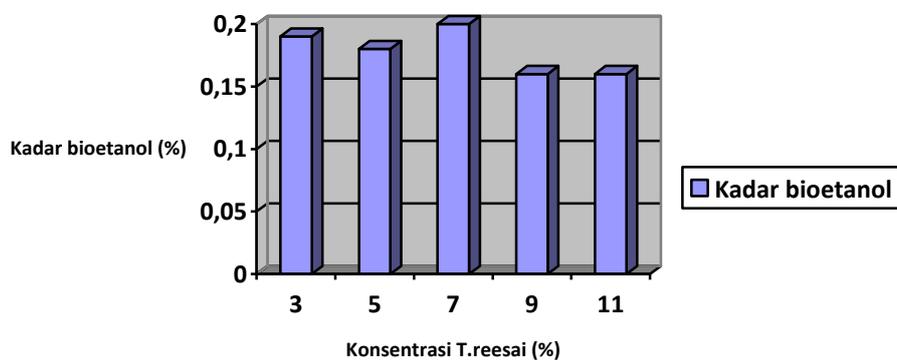
Berdasarkan Gambar 10, dihitung aktifitas enzim selulase dengan menggunakan rumus unit aktifitas didapatkan hasil aktifitas enzim *Trichoderma reesei* 3% sebesar 0,41 U/mL, aktifitas enzim *Trichoderma reesei* 5% sebesar 0,70 U/mL, aktifitas enzim *Trichoderma reesei* 7% sebesar 0,99 U/MI, aktifitas enzim *Trichoderma reesei* 9% sebesar 0,40 U/mL dan aktifitas enzim *Trichoderma reesei* 11% sebesar 0,29 U/mL.

Berdasarkan data yang didapat dilakukan juga uji anova untuk mengetahui perbedaan kadar gula reduksi antar perlakuan dengan hasil hitung =

$0.00 < \alpha$ Tabel 0.05 sehingga H_0 diterima dan H_1 ditolak. Hal ini menunjukkan bahwa kadar enzim berbeda menghasilkan gula reduksi yang berbeda.

Untuk mengetahui letak perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT 5% dan mendapatkan hasil bahwa seluruh perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata.

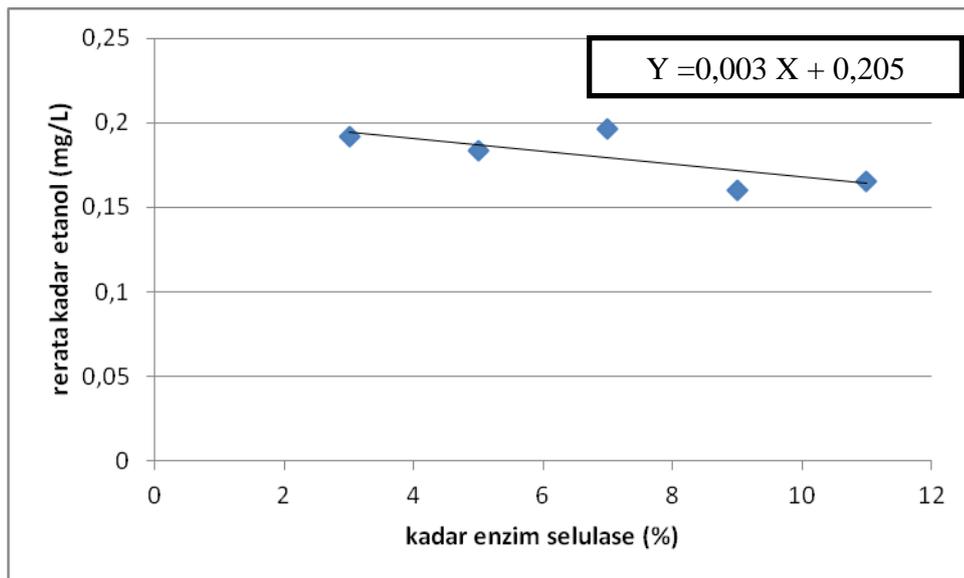
5. Hasil Pengukuran kadar bioetanol *Sargassum* dengan perlakuan *T.reesai* dan fermentasi dengan *Saccharomyces*



Gambar 11. Kadar bioetanol fermentasi *Sargassum* dengan *Saccharomyces* setelah perlakuan *T.reesai*.

Berdasarkan Gambar 11 terlihat kadar bioetanol tertinggi terdapat pada perlakuan *T.reesai* konsentrasi 7%. Hal tersebut sesuai dengan hasil pengukuran kadar gula tertinggi juga terdapat pada konsentrasi *T.reesai* 7%. Hal tersebut menunjukkan bahwa *Saccharomyces* dapat mengubah gula reduksi menjadi bioetanol.

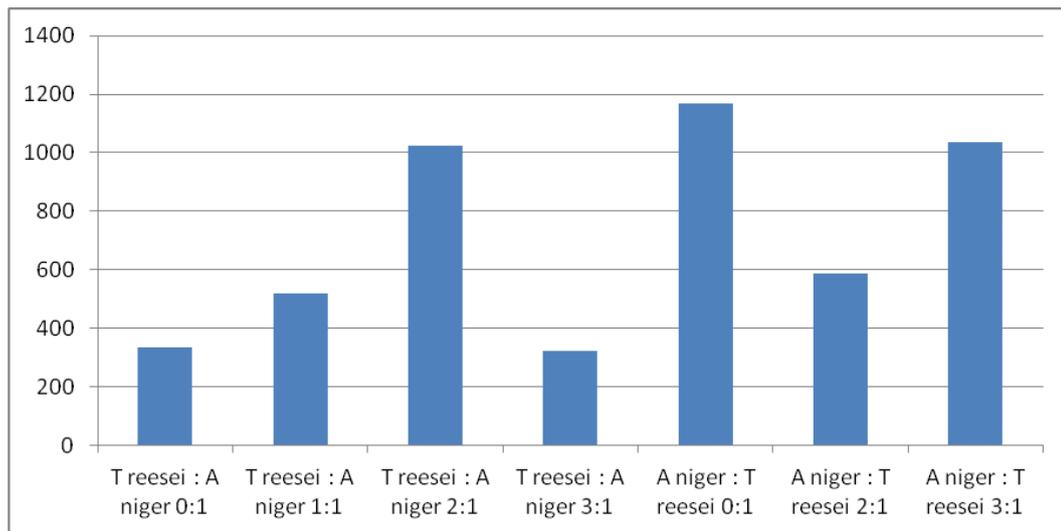
Berdasarkan dari Gambar 11. maka dapat dibuat grafik pengaruh kadar enzim selulase terhadap kadar bioetanol dari *Sargassum* sp.



Gambar 12. Grafik Pengaruh Kadar Enzim Selulase dari Jamur *Trichoderma reesei* Terhadap Hasil Uji kadar etanol dari *Sargassum* sp.

Berdasarkan data yang didapat dilakukan juga uji anova untuk mengetahui perbedaan kadar bioetanol antar perlakuan dan diketahui F hitung = 0,09 > α Tabel 0,05 sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini menunjukkan bahwa kadar enzim berbeda tidak menghasilkan kadar etanol yang berbeda. Untuk mengetahui letak perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT 5% dengan hasil bahwa terdapat beda nyata pada setiap perlakuan.

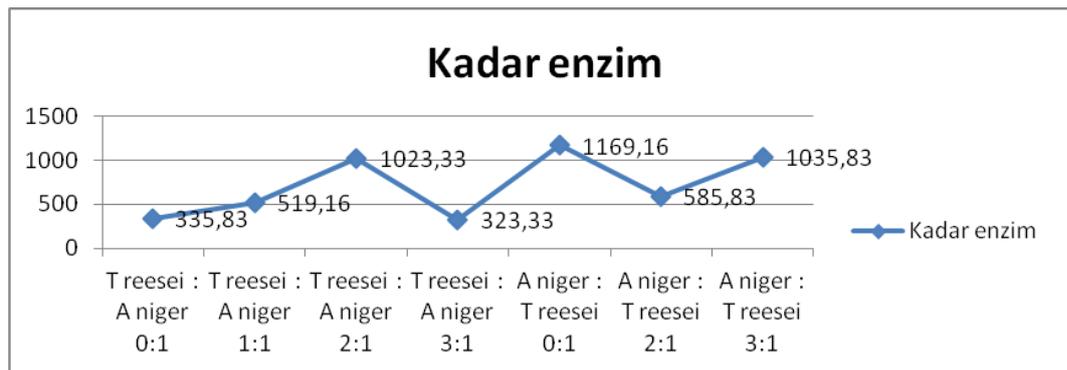
6. Hasil pengukuran gula reduksi setelah perlakuan dengan enzim yang berasal dari kombinasi *Trichoderma reesai* dan *Aspergillus niger*



Gambar 13. Hasil pengukuran gula reduksi setelah perlakuan *T.reesai* dan *A.niger*

Berdasar Gambar 13 terlihat bahwa kadar gula tertinggi terdapat pada perlakuan *A.niger* : *T reesai* = 0:1. yang menunjukkan bahwa *T.reesai* bekerja mendegradasi sellulase menjadi gula sederhana hingga menunjukkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi dibandingkan sebelum perlakuan dengan *T reesai* tersebut. Berdasar Gambar 13 tersebut terlihat bahwa ada kerjasama antara *T.reesai* dan *A.niger* dalam mengubah sellulosa menjadi gula sederhana yang ditunjukkan oleh perbandingan *T.reesai* dan *A.niger* = 2:1 dan *T.reesai* dan *A.niger* = 1:3 yang menunjukkan kadar gula reduksi yang lebih tinggi dibandingkan sebelum perlakuan dengan fungi tersebut. Hal tersebut sesuai pernyataan Kodri dkk., (2013) bahwa *A.niger* dan *T.reesai* merupakan fungi sellulolitik yang dapat mengubah sellulosa menjadi gula sederhana.

Berdasarkan dari Gambar 13. maka dapat dibuat grafik pengaruh kadar enzim selulase dari jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*.



Gambar 14. Grafik Pengaruh Kadar Enzim Selulase dari Jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Terhadap Hasil Uji Gula Reduksi dari *Sargassum* sp

Berdasarkan dari Gambar 14. Dapat diketahui nilai gula reduksi dari *sargassum* sp menggunakan campuran selulosa dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dengan variasi 0:1,1:1,1:0,1:3,3:1,2:1,1:2 untuk menghitung aktivitas enzim selulase dengan rumus Perhitungan Aktivitas Enzim $IU = \frac{\mu M \text{ glukosa}}{mL * waktu}$ berikut ini merupakan hasil dari aktivitas enzim selulase.

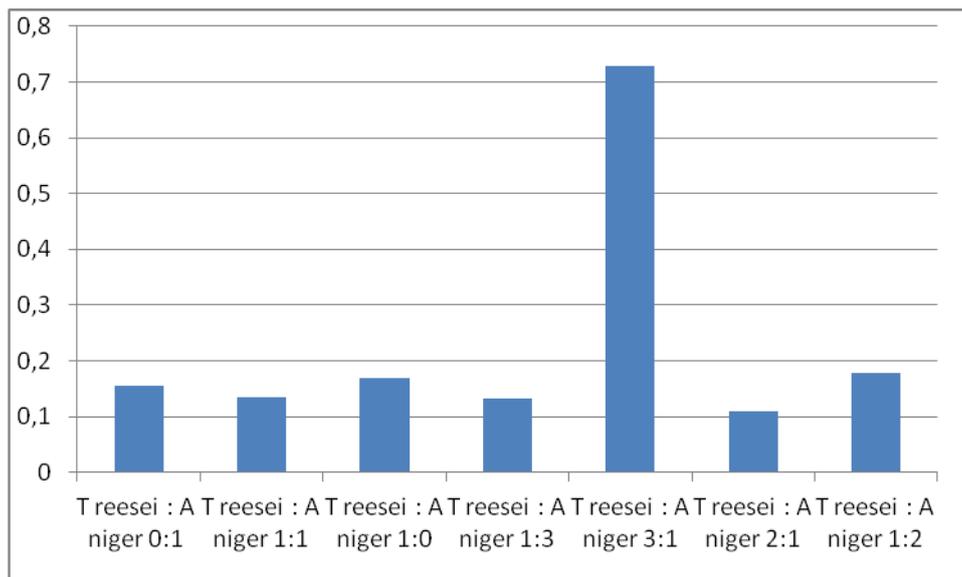
Tabel 2. Aktivitas enzim selulase dari jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* terhadap *sargassum* sp.

No	Sampel / kode	Aktivitas enzim selulase
1	<i>T reesei</i> : <i>A niger</i> 1:0	0,233
2	<i>T reesei</i> : <i>A niger</i> 1:1	0,180
3	<i>T reesei</i> : <i>A niger</i> 2:1	0,236
4	<i>T reesei</i> : <i>A niger</i> 3:1	0,056
5	<i>A niger</i> : <i>T reesei</i> 1:0	0,811
6	<i>A niger</i> : <i>T reesei</i> 2:1	0,135
7	<i>A niger</i> : <i>T reesei</i> 3:1	0,179

Berdasarkan Tabel 2. Dapat diketahi bahwa aktivitas enzim yang paling tertinggi terdapat pada *Aspergillus niger* : *Trichoderma reesei* 1:0 dengan nilai 0,811 sedangkan nilai yang paling kecil terdapat pada *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* 3:1 dengan nilai 0,056 hal ini

karena nutrien yang ditambahkan kedalam media akan dihabiskan selama berlangsungnya proses inkubasi sampai dihasilkan aktivitas enzim yang maksimal, kemudian dengan berkurangnya nutrien akan mengakibatkan aktivitas produksi enzim dan pertumbuhan mikroorganismenya akan menurun. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar gula reduksi terhadap kadar enzim selulase dari jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dilakukan analisis varian dengan hasil F hitung = 1373,731 > α Tabel 0.05 sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini menunjukkan bahwa kadar enzim berbeda tidak menghasilkan gula reduksi yang berbeda. Untuk mengetahui letak perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT 5% dengan hasil bahwa terdapat beda nyata pada setiap perlakuan.

7. Hasil Pengukuran kadar bioetanol Sargassum dengan perlakuan *T.reesai* dan *A.niger* serta fermentasi dengan *Saccharomyces*.

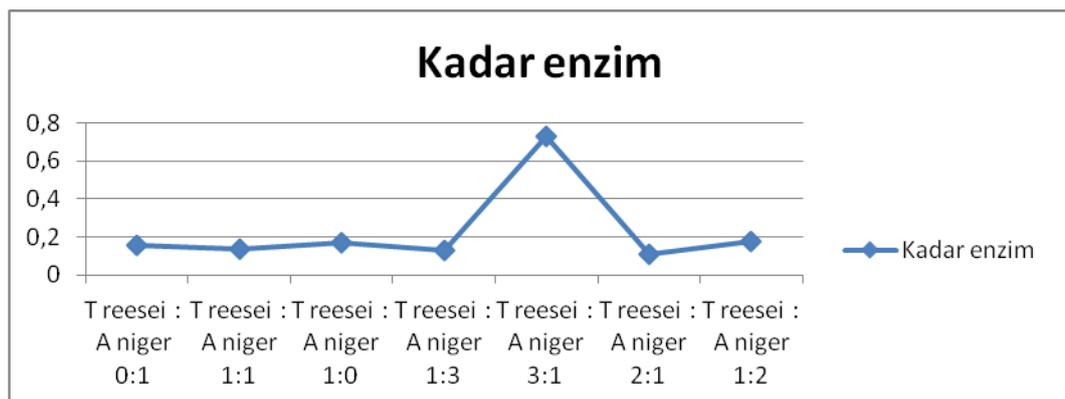


Gambar 15. Hasil pengukuran kadar bioetanol Sargassum setelah fermentasi

Berdasar Gambar 15 tersebut terlihat bahwa kadar bioetanol tertinggi juga terdapat pada perlakuan *A.niger* : *T reesai* = 0:1. Hal tersebut sesuai dengan pengukuran gula reduksi yang tertinggi juga pada perlakuan tersebut.

Hal ini menunjukkan bahwa *T reesai* dapat mengubah selulosa pada *Sargassum* menjadi gula sederhana sehingga dapat diubah menjadi bioetanol oleh *Saccharomyces*.

Berdasarkan Gambar 15 Hasil Uji bioetanol dari jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* maka dapat dibuat grafik Pengaruh Kadar Enzim Selulase dari Jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Terhadap Hasil Uji bioetanol dari fermentasi *Sargassum* sp.



Gambar 16. Grafik Pengaruh Kadar Enzim Selulase dari Jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* Terhadap Hasil Uji Ethanol dari fermentasi *Sargassum* sp.

Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan pengaruh kadar etanol terhadap kadar enzim selulase dari jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dilakukan analisis varian dengan hasil F hitung = 118,86 > α Tabel 0.05 sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini menunjukkan bahwa kadar enzim berbeda tidak menghasilkan kadar bioetanol yang berbeda. Untuk mengetahui letak perbedaan yang nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT 5% dengan hasil bahwa terdapat beda nyata pada setiap perlakuan.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kadar bioetanol dapat ditingkatkan melalui penambahan enzim selulase yang berasal dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger*.
2. Dengan penambahan enzim selulase yang berasal dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger* kadar bioetanol dapat ditingkatkan sebesar 64%.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk meningkatkan kadar bioetanol dengan memanfaatkan bakteri penghasil enzim cellulase.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2007. *Alkohol*. <http://www.wikipedia.com/alkohol> download tanggal 27 Maret 2008
- _____, 2008. *Glycolysis cycle*. <http://www.people.eku.edu/ritchisong/RITCHISO/glycolysis.gif> download tanggal 27 Maret 2008
- _____, 2000. *Alkohol*. <http://www.pustekkom.com/alkohol> download tanggal 27 Maret
- _____, 2008, <http://www.trubus-online.com/>,/ethanol
- _____, 2006, <http://www.trubus-online.com/>,/ethanol
- _____, 2009, *Algae Sargassum* <http://zaifbio.wordpress.com/2009/01/30/ganggang-algae>, download tanggal 21 Agustus 2011
- Azizah. N, dkk, 2012. “Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, Ph, Dan Produksi Gas Pada Pross Fermentasi Bioetanol Dari Ehey Dengan Substansi Kulit Nanas”. Semarang: UNDIP. *Jurnal Penelitian Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol.1, No 2, 2012:72-73.
- Buckle, Edward, Fleet, Wootton, 1987. *Ilmu Pangan*. Jakarta : Universitas Indonesia Press
- Burtin P, 2003, Nutritional Value of seaweeds,electron,*J. Environ Agrc Food Chem.*,2;298 – 503.
- Desrosier, Norman W, 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Febriani, Ali Ridlo, AB. Susanto. 2014. Potensi Yeast Dalam Fermentasi Alginofit *Sargassum Polycystum* C.A Agardh Dengan Hidrolisis Asam Sulfat Untuk Pembuatan Bioetanol. *Journal Of Marine Research*. Volume 2, Nomor 3, Tahun 2014, Hal. 91-98 Online di: <http://ejournals1.undip.ac.id/index.php/jmr>
- Hidayat, Nur, 2007. *Teknologi Pertanian dan Pangan*. <http://www.worldpress.com/fermentasi>. download tanggal 23 Maret 2008
- Kadi, A dan W,S. Atmajaya 1988, *Rumput Laut (Algae)*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseonologi, LIPI. Jakarta.
- Kasmiran A dan Tarmizi. 2012. “Aktivitas Enzim Sellulase Dari Kapang Selulolitik Pada Substrat Ampas Kelapa”. Padang : UNAS. *Jurnal Lentera*, Vol. 12, No. 1, 9.

- Khaira Zul fadly, Elvi Yenie, Sri Rezeku Muria. 2015. Pembuatan bioetanol Dari Limbah Tongkol Jagung Menggunakan Proses *Simultaneous Sacharificatian And Fermentation* (Ssf) Dengan Variasi Konsentrasi Enzim Dan Waktu Fermentasi. *Jurnal Jom Fteknik*. Vol. 2 No. 2
- Kodri, Bambang dwi Argo dan Rini Yulianingsih. 2013. Pemanfaatan EnzimSelulase dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillusniger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan *Pretreatment* Microwave. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol. 1 No. 1.
- Narita, Vanny, 2005. *Saccharomyces cerevisiae Superjamur yang Memiliki Sejarah Luar Biasa*. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT). Jakarta. [http://www.bppt.com/Saccharomyces cerevisiae](http://www.bppt.com/Saccharomyces_cerevisiae). download tanggal 10 Maret 2008.
- Priyo, 2007. *Bagaimana proses pembuatan alkohol 96% dari fermentasi tetes tebu beserta reaksi yang terjadi*. <http://www.yahooanswer.com/alkohol> download tanggal 10 Maret 2008.
- Riadi, Lieke, 2007. *Teknologi Fermentasi*. Yogyakarta : Graha Ilmu
- Rioux L.E , S.L. Turgeon , M. Beaulieu. 2007, *Journal Of Characterization Of Polysaccharides Extracted From Brown Seaweeds*
- Saputra, Dion, Ali Ridho, Ita Widowati. 2012. Kajian Rumput laut *Sargassum duplicatum* J.G Agardh sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Journal of Marine* Volume 1 Nomor 2 Tahun 2012
- Sa'id, Gumbira, 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. Jakarta : PT. Melon Putra
- Sari, Anita Purnama, Ahyar Ahmad, Hanapi Usman. 2011. *Produksi Bioetanol dari Sellulosa Alga Merah dengan Sistem Fermentasi Simultan menggunakan Bakteri Clostridium acetobutylicum*
- Sardjoko, 1991. *Bioteknologi Latar Belakangdan Beberapa Penerapannya*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama
- Subowo G. 2010. Strategi Efisiensi Penggunaan Bahan Organik untuk Kesuburan dan Produktivitas Tanah Melalui Pemberdayaan Sumberdaya Hayati Tanah. *Jurnal Sumberdaya Lahan* Vol. 4 No. 1
- Surawidjaja dalam Trubus, 2007, *Mengebor Bensin di Kebun Singkong* <http://www.trubus-online.com>.

Suhartanti, D, 2007. *Diktat Kuliah (hand out) Mikrobiologi I*

Suhartanti, D, 2006. *Diktat Kuliah (hand out) Mikrobiologi II*

Sukarno dan Amin, 1996. *Biologi*. Jakarta : Departemen Pendidikan Nasional

Wirahadikusumah, Muhammad, 2002. *Biokimia Metabolisme Energi, Karbohidrat, dan Lipid*. Bandung : Penerbit ITB Bandung

Lampiran Foto penelitian



Gambar 1. Lokasi pengambilan *sargassum*



Gambar 2. Penjemuran *sargassum* sp.



Gambar 3. *Sargassum* kering



Gambar 4. Serbuk *Sargassum*



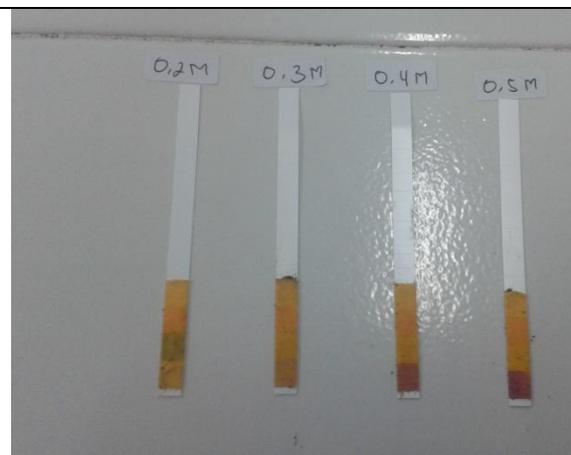
Gambar 5. Penimbangan Serbuk Sargassum sp.



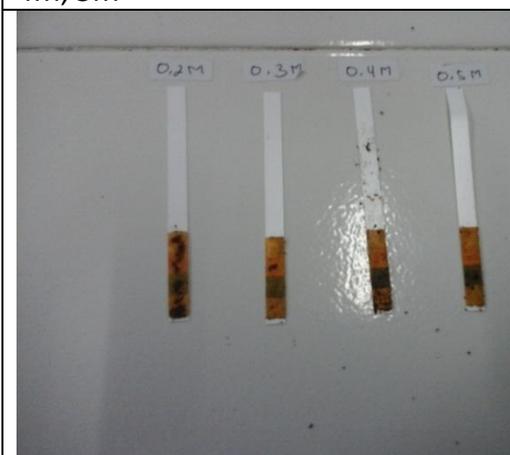
Gambar 6. Pengenceran H₂SO₄



Gambar 7. Hidrolisis H₂SO₄ 2 M, 3M, 4M, 5M



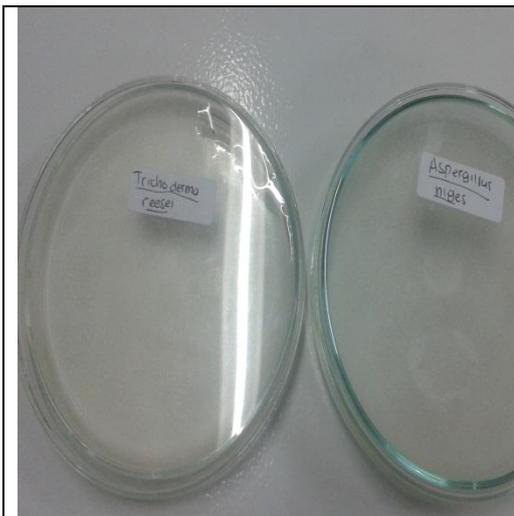
Gambar 8. pH Asam



Gambar 9. Ph netral



Gambar 10. Pembuatan media PDA



Gambar 11. Penumbuhan jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*



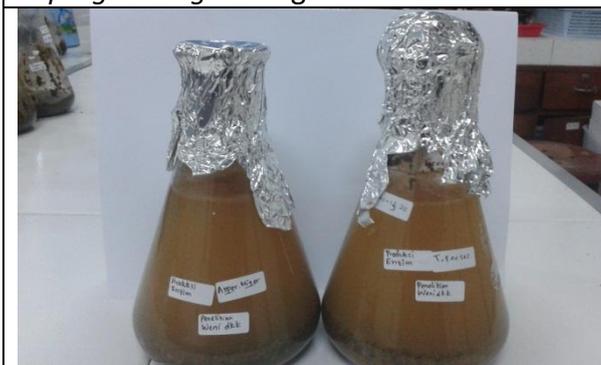
Gambar 12. jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*



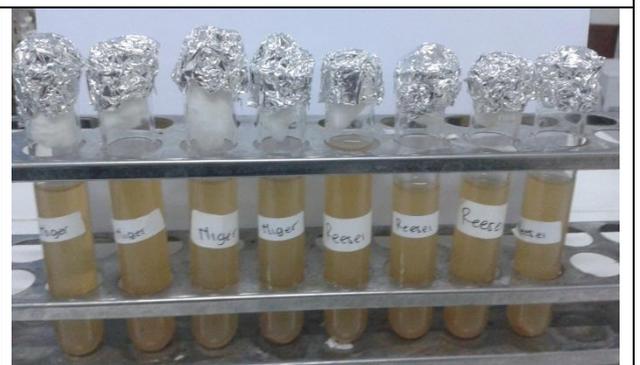
Gambar 13. Biakan *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dengan larutan tween



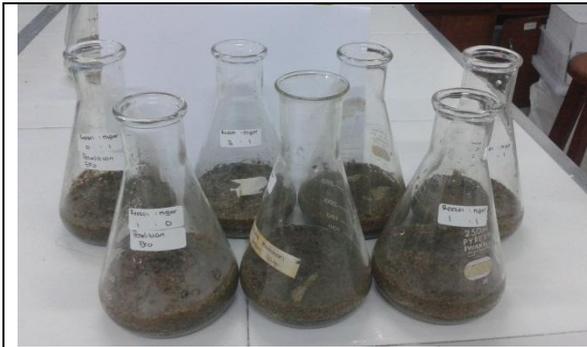
Gambar 14. Spora *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*



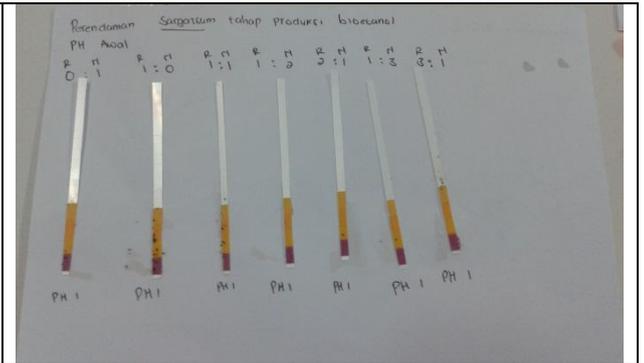
Gambar 15. Produksi enzim



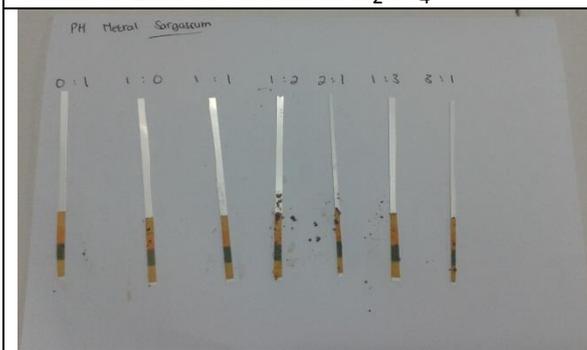
Gambar 16. Enzim setelah sentrifugasi



Gambar 17. Perendaman H₂SO₄



Gambar 18. pH asam



Gambar 19. pH netral



Gambar 20. Tahapan mengukur gula reduksi



Gambar 21. Media YPG



Gambar 22. Fermentasi *sargassum* produksi bioetanol



Gambar 23. YPG dengan *S cerevisiae*



LAPORAN HASIL UJI

No. Sertifikat : 01944/01/LPPT/X/2016

No. Pengujian : 16090101944

Informasi Customer

Nama : Weni Listia Ningrum

Tanggal Penerimaan : 14 September 2016

Alamat : FKIP Universitas Ahmad Dahlan

Tanggal Pengujian : 16 September 2016

Hasil Pengujian

1. Sargasum (0,2)

No	Parameter Uji	Hasil	Satuan	Metode
1.	Glukosa	557,79	µg/g	HPLC
2.	Fruktosa	225,62	µg/g	HPLC
3.	Sukrosa	622,59	µg/g	HPLC

2. Sargasum (0,3)

No	Parameter Uji	Hasil	Satuan	Metode
1.	Glukosa	226,57	µg/g	HPLC
2.	Fruktosa	236,77	µg/g	HPLC
3.	Sukrosa	304,70	µg/g	HPLC

3. Sargasum (0,4)

No	Parameter Uji	Hasil	Satuan	Metode
1.	Glukosa	378,56	µg/g	HPLC
2.	Fruktosa	200,28	µg/g	HPLC
3.	Sukrosa	251,57	µg/g	HPLC

4. Sargasum (0,5)

No	Parameter Uji	Hasil	Satuan	Metode
1.	Glukosa	<4,2	µg/g	HPLC
2.	Fruktosa	200,38	µg/g	HPLC
3.	Sukrosa	<2,9	µg/g	HPLC



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp.0274-524517 , 901311; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: PS / 09 /2016

Lab. Penguji : Pangan dan Gizi
Tanggal Pengujian : September 2016
Sampel : Sargassum (5 sampel)

No	Sampel / kode	Macam Analisa	Hasil analisa (%)		
			UI 1	UI 2	UI 3
1.	A.Niger 3%	Ethanol	0,1899	0,1816	
2.	A.Niger 5%	Ethanol	0,1551	0,1588	
3.	A.Niger 7%	Ethanol	0,1035	0,1049	
4.	A.Niger 9%	Ethanol	0,1722	0,1854	
5.	A.Niger 11%	Ethanol	0,1724	0,1798	

Penyelia


Dr.Rachma Wikandari, STP, M.Biotech



Dilaporkan oleh
Analisis


Nuryanto

NB: Hasil analisa hanya berlaku untuk sampel yang dianalisa



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Sosio Yustisia 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp.0274-549650, 6291328, 41301; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 667 / PS / 09 / 16

Lab. Penguji : Pangan dan Gizi
Tanggal Pengujian : 30 September 2016
Sampel : Sargasum (5 sampel)
Pemilik sampel : Pratiwi

No	Sampel / kode	Macam analisa	Hasil analisa (mg/L)		
			UL 1	UL 2	UL 3
1	Enzim <i>A.niger</i> 3%	Gula Reduksi (mg/L)	498,33	490	
2	Enzim <i>A.niger</i> 5%	Gula Reduksi (mg/L)	373,33	365	
3	Enzim <i>A.niger</i> 7%	Gula Reduksi (mg/L)	506,67	490	
4	Enzim <i>A.niger</i> 9%	Gula Reduksi (mg/L)	340	323,33	
5	Enzim <i>A.niger</i> 11%	Gula Reduksi (mg/L)	1198,33	1181,67	



Penyelia
Dr. Andriat Ningrum, S.TP., M.Agr

Dilaporkan oleh
Analis

Anang JY
Anang JY



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp.0274-524517 , 901311; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 695 / PS / 09 / 2016

Lab. Penguji : Pangan dan Gizi
Tanggal Pengujian : September 2016
Sampel : Sargassum (5 sampel)

No	Sampel / kode	Macam Analisa	Hasil analisa (%)		
			UI 1	UI 2	UI 3
1.	T.Reesei 3%	Ethanol	0,1955	0,1876	
2.	T.Reesei 5%	Ethanol	0,1800	0,1876	
3.	T.Reesei 7%	Ethanol	0,1901	0,2034	
4.	T.Reesei 9%	Ethanol	0,1636	0,1564	
5.	T.Reesei 11%	Ethanol	0,1611	0,1702	

Penyelia


Dr.Rachma Wikandari,STP,M.Biotech



Dilaporkan oleh
Analisis


Nuryanto

NB: Hasil analisa hanya berlaku untuk sampel yang dianalisa



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Sosio Yustisia 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp. 0274-549650, 6291328, 41301; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 666 / PS / 09 / 16

Lab. Penguji : Pangan dan Gizi
Tanggal Pengujian : 30 September 2016
Sampel : Sargasum (5 sampel)
Pemilik sampel : Weni

No	Sampel / kode	Macam analisa	Hasil analisa (mg/L)		
			UL 1	UL 2	UL 3
1	Enzim <i>T.reseei</i> 3%	Gula Reduksi (mg/L)	173,33	181,67	
2	Enzim <i>T.reseei</i> 5%	Gula Reduksi (mg/L)	506,67	515	
3	Enzim <i>T.reseei</i> 7%	Gula Reduksi (mg/L)	1006,67	998,33	
4	Enzim <i>T.reseei</i> 9%	Gula Reduksi (mg/L)	523,33	523,33	
5	Enzim <i>T.reseei</i> 11%	Gula Reduksi (mg/L)	465	456,67	



Penyelia
Dr. Andriat Ningrum, S.TP., M.Agr

Dilaporkan oleh
Analisis

Anang JY



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp.0274-524517 , 901311; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 695 / PS / 09 / 2016

Lab. Penguji : Pangan dan Gizi
Tanggal Pengujian : September 2016
Sampel : Sargassum (5 sampel)

No	Sampel / kode	Macam Analisa	Hasil analisa (%)		
			UI 1	UI 2	UI 3
1.	T.Reesei 3%	Ethanol	0,1955	0,1876	
2.	T.Reesei 5%	Ethanol	0,1800	0,1876	
3.	T.Reesei 7%	Ethanol	0,1901	0,2034	
4.	T.Reesei 9%	Ethanol	0,1636	0,1564	
5.	T.Reesei 11%	Ethanol	0,1611	0,1702	

Penyelia

Dr.Rachma Wikandari,STP,M.Biotech



Dilaporkan oleh
Analisis

Nuryanto

NB: Hasil analisa hanya berlaku untuk sampel yang dianalisa



HASIL ANALISA

NO: 668 / PS / 09 / 16

Lab. Penguji : Pangan dan Gizi
Tanggal Pengujian : 30 September 2016
Sampel : Sargasum (7 sampel)
Pemilik sampel : Eka

No	Sampel / kode	Macam analisa	Hasil analisa (mg/L)		
			UL 1	UL 2	UL 3
1	<i>T.reseei</i> : <i>A.niger</i> (1:0)	Gula Reduksi (mg/L)	340	331,67	
2	<i>T.reseei</i> : <i>A.niger</i> (1:1)	Gula Reduksi (mg/L)	515	523,33	
3	<i>T.reseei</i> : <i>A.niger</i> (2:1)	Gula Reduksi (mg/L)	1031,67	1015	
4	<i>T.reseei</i> : <i>A.niger</i> (3:1)	Gula Reduksi (mg/L)	331,67	315	
5	<i>A.niger</i> : <i>T.reseei</i> (1:0)	Gula Reduksi (mg/L)	1173,33	1165	
6	<i>A.niger</i> : <i>T.reseei</i> (2:1)	Gula Reduksi (mg/L)	590	581,67	
7	<i>A.niger</i> : <i>T.reseei</i> (3:1)	Gula Reduksi (mg/L)	1056,67	1015	



Dilaporkan oleh



Laboratorium Uji
TEKNOLOGI PANGAN DAN HASIL PERTANIAN
Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281
Telp.0274-524517, 901311; Fax. 0274-549650

HASIL ANALISA

NO: 694 / PS / 09 / 2016

Lab. Penguji : Pangan dan Gizi
Tanggal Pengujian : September 2016
Sampel : Sargassum (7 sampel)

No	Sampel / kode	Macam Analisa	Hasil analisa (%)		
			UI 1	UI 2	UI 3
1.	Reesei:Niger=0:1	Ethanol	0,1567	0,1554	
2.	Reesei:Niger=1:1	Ethanol	0,1254	0,1460	
3.	Reesei:Niger=1:0	Ethanol	0,1788	0,1590	
4.	Reesei:Niger=1:3	Ethanol	0,1340	0,1329	
5.	Reesei:Niger=3:1	Ethanol	0,6760	0,7789	
6.	Reesei:Niger=2:1	Ethanol	0,1097	0,1096	
7.	Reesei:Niger=1:2	Ethanol	0,1739	0,1816	



Penyelia
[Signature]
Dr.Rachma Wikandari,STP,M.Biotech

Dilaporkan oleh
Analisis

[Signature]
Nuryanto

Lampiran Biodata Ketua dan Anggota Tim Pengusul

Biodata Ketua Tim Pengusul

A. Identitas Diri

1	Nama lengkap	Trianik Widyaningrum,M.Si
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Dosen Pendidikan Biologi UAD
4	NIY	60970160
5	NIDN	0514017001
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Semarang, 14 Januari 1970
7	E-mail	trianikwidyaningrum@ymail.com
8	Nomor Telpon/HP	0816682123
9	Alamat kantor	UAD Kampus 3. Jl.Prof.Dr.Soepomo Janturan Yogyakarta
10	Nomor telepon/Faks	(0274) 563515/ (0274) 564604
11	Lulusan yang Telah dihasilkan	S1 = 310 orang S2 = 0 S3 = 0
12	Mata kuliah yang Diampu	1. Biologi Dasar 2. Genetika 3. Evolusi 4. Dasar-dasar Bioteknologi

B.Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	UGM	UGM	
Bidang Ilmu	Biologi	Biologi	
Tahun Masuk-Lulus	1988-1994	1998-2001	
Judul skripsi/thesis/disertasi	Stratigrafi Pollen dan Spora di Telaga Sumurup Dieng	Ribosom Inactivating Protein (RIPs) <i>Curcuma mangga</i> yang Tumbuh pada Ketinggian yang Berbeda	
Nama Pembimbing/Promotor	Dr.Agus Pudjoarinto,SU	Dr.Hari Hartiko,SU	

C. Pengalaman Penelitian dalam 3 Tahun terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta)
1	2011	Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Racunan (<i>Euphorbia pulcherrima</i>) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis.	UAD	4

2	2012	Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Racunan (<i>Euphorbia pulcherrima</i>) Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis.	UAD	4,5
3	2013	Peningkatan Keaktifan dan Prestasi Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UAD Melalui Model Belajar Kelompok dan Media Pembelajaran Imitasi Persilangan Pada Mata Kuliah Genetika	Dikti	5,7
4	2013	Peningkatan Bioetanol Sargassum Dengan Penambahan Kultur Murni <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	UAD	5
5	2014	Kadar Bioetanol Fermentasi Kulit Jagung Menggunakan Ragi (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Dikti	9
6	2014	Pengembangan Media Pembelajaran Biologi SMA Berbasis Kontekstual Pada Rumpun Bioteknologi Melalui Penerapan Hasil Penelitian Kadar Bioetanol Fermentasi Kulit Jagung Menggunakan Ragi (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) Di SMA Muhammadiyah 3 Yogyakarta	Dikti	13
5	2015	Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase	Dikti	60
6	2016	Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase (tahun ke 2)	Dikti	50

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 3 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta)
1	2011	Memberikan Pelatihan Aktif Learning kepada Guru-guru SMP Negeri 2 Bantul	UAD	0,4
2	2012	Memberikan Pelatihan Aktif Learning kepada Guru-guru SMP,SMA,SMK Muhammadiyah di Purbalingga	UAD	1
3	2012	Memberikan Pelatihan Aktif Learning kepada Mahasiswa STKIP Muhammadiyah Pringsewu Lampung	UAD	1,5
4	2012	IbM Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Beras Hitam di Bantul	DP2M	40
5	2013	Tot Pelatihan Motivasi Belajar Siswa Dan Pelatihan Pengembangan Pembelajaran Aktif Bagi Guru Di SMP Negeri 3 Pajangan Dan SMP Negeri 2 Kasihan Bantul	DP2M	45

6	2013	KKN PPM Pemberdayaan Masyarakat Dalam Pembuatan Pakan Ternak Silase Dengan Bahan Dasar Jerami Guna Mensiasati Paceklik Pangan	DP2M	70
7	2014	TOT Pelatihan Motivasi Belajar Siswa Dan Pelatihan Pengembangan Pembelajaran Aktif Bagi Guru Di SMP Muhammadiyah 1 dan SMP Muhammadiyah 2 Gamping	DP2M	44,5
8	2014	Pemberdayaan Masyarakat dalam Pembuatan Pupuk Organik guna Mensiasati Kerusakan Tanah di Desa Sidomulyo Kecamatan Bambanglipuro Kabupaten Bantul	DP2M	80
8	2015	Pemberdayaan Masyarakat Dalam Pembuatan Briket Guna Mensiasati Penumpukan Limbah Organik Di Desa Argodadi, Sedayu, Bantul	DP2M	75
9	2015	Peningkatan Produksi Bibit Jamur F3 di Bantul	DP2M	44.5

E.Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 3 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/ Tahun
1	Pengaruh Ekstrak Air Bayam Terhadap Kadar Hb dan Tekanan darah Mencit	Bio Edukatika	Vol I No. 1 Juli 2013
2	Uji Patogenitas Spora Jamur <i>Metarhizium anisopliae</i> terhadap Mortalitas Hama <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari) Sebagai Bahan Ajar Biologi SMA Kelas X	Jupemasi- Pbio	Vol 1. No.1 Tahun 2014
3	Uji Patogenitas Spora Jamur <i>Metarhizium anisopliae</i> terhadap Mortalitas Larva <i>Oryctes Rhinoceros</i> Sebagai Bahan Ajar Biologi SMA Kelas X	Jupemasi- Pbio	Vol 1. No.1 Tahun 2014
4	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Patikan Kebo (<i>Euphorbia hirta</i> L) Terhadap <i>Salmonella thypi</i>	Jurnal Nasional Bio Wallacea Program Studi Biologi, Fakultas FMIPA,	Vol.2 No. 1 Januari 2016 ISSN: 2442-2622

		Universitas Mataram	
--	--	---------------------	--

F. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 3Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Seminar Nasional "Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya, Menuju Pembangunan Karakter"	Pengaruh merciru klorida terhadap pertumbuhan dan histopatologi ginjal ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i> L.)	16 Juli 2011 di UNS
2	Seminar Nasional Alfa	Peningkatan pemahaman siswa siswa SMA kelas XI pada materi mata pelajaran struktur dan fungsi membran plasma melalui membran 3 dimensi	2011 di UKSW
3	International Conference On Green World in Business and Teknology.	Test Antibacterial Activity of Ethanol Extract Racunan Leaf (<i>Euporbia</i> Wild) Against Bacteria <i>Escherichia Coli</i> Profile With Thin Layer Chormatography	23-24 Maret 2012 di UAD
4	Seminar Nasional "Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya, Menuju Pembangunan Karakter"	Pengaruh dosis ekstrak air kangkung (<i>ipomoea reptans</i> poir.) terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin mencit (<i>mus musculus</i>)	7 Juli 2012 di UNS
5	Seminar Nasional Pengembangan Pendidikan ALFA	Pengaruh Model Pembelajaran Kelompok Dan Model Pembelajaran Jigsaw Terhadap Hasil Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UAD Pada Mata Kuliah Biologi Dasar 2	3 November 2012 di UNS
6	International Conference On Green Economy	Test Antibacterial Activity of Ethanol Extract Racunan Flower (<i>Euporbia</i> Wild) Against Bacteria <i>Escherichia coli</i> and Profile With Thin Layer Chormatography	22-23 Desember 2012
7.	International Conference on Green Word in Business and Teknology.	Test Antibacterial Activity of Ethanol Extract Racunan Flower (<i>Euporbia</i> Wild) Against Bacteria <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aures</i> and Profile With Thin Layer Chormatography	23 Maret 2013

8	Enhancing International Collaborative Research on Educational, Science, and Humanities	Antibacterial Activity Ethanol Extract of Euphorbia pulcherrima Wild Leaf's Against Escherichia coli and Staphylococcus aureus With Thin Layer Chromatography Profil	19-21 June 2013
9	Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi di UNY	Pengaruh Komposisi Campuran Tepung Jeroan Ikan Patin (<i>Pangasius Pangasius</i>) Dan Pellet Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Protein Ikan Nila (<i>Oreochromis Niloticus</i>)	Oktober 2013
10	International Conference on Green Word in Business and Teknology.	Effect Of Ethanol Extract Flower <i>Chrysanthemum Cinerariaefolium</i> Trev) On Mortality Mosquito Larvae Of <i>Aedes Albopictus</i> (Skuse)	29 Maret 2014
11	Seminar nasional di UMM	Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Sidaguri (<i>Sida Rhombifolia</i>) Terhadap <i>Candida Albicans</i>	21 Maret 2015
12	Seminar Nasional ALFA ke IV di UNY	Peningkatan Keaktifan dan Prestasi Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UADMelalui Model Belajar Problem Based Learning Pada Mata Kuliah Metodologi Penelitian	9 Mei 2015
13	Seminar Nasional Wallacea di Universitas Mataram Lombok	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Patikan Kebo (<i>Euphorbia Hirta</i> L.) Terhadap <i>Salmonella Thypi</i>	19 Agustus 2015

G. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Modul TOT Motivasi Berprestasi	2013	100	deepublish
2	Modul TOT Pembelajaran aktif	2013	112	deepublish
3				
Dst.				

H. Perolehan HKI dalam 5–10 Tahun Terakhir

No.	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1	Modul TOT Motivasi Berprestasi	2013	Buku ISBN	C22201400025
2	Modul TOT	2013	Buku	C22201400024

	Pembelajaran aktif		ISBN	
3				
Dst.				

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima risikonya. Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pelaporan Hibah Bersaing

Yogyakarta, 24 Mei 2016
Penyusun



Trianik Widyaningrum, M.Si

Biodata Anggota Peneliti

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Indro Prastowo, STP, M.Biotech
2	Jenis Kelamin	Laki-laki
3	Jabatan Fungsional	Dosen Pendidikan Biologi UAD
4	NIY	60120704
5	NIDN	<u>0525018601</u>
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Yogyakarta, 25 Januari 1986
7	Email	<u>indro.prastowo25@gmail.com</u>
8	No HP	08122574794
9	Alamat Kantor	Kampus III Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta 55164,
10	Nomor Telepon/Faks	(0274) 564604
11	Lulusan yang Telah Dihasilkan	0
12	Mata Kuliah yg Diampu	Teknologi Fermentasi
		Aplikasi Komputer
		Mikrobiologi I
		Mikrobiologi II
		Ilmu Alamiah Dasar

A. Riwayat Pendidikan

	S1	S2	S3
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Gadjah Mada	Universitas Gadjah Mada	
Bidang Ilmu	Teknologi Industri Pertanian	Bioteknologi	
Tahun Masuk-Lulus	2004-2008	2009-2011	
Judul Skripsi/Thesis/Desertasi	Kelayakan Industri Biodiesel Berbasis Minyak Algae (<i>Scenedesmus dimorphus</i>)	Sintesis Etil Ester Asam Lemak Secara Enzimatis Menggunakan Lipase Kecambah Biji Jarak (<i>Jatropha curcas</i>) dan Rice Bran (<i>Oryza sativa</i>) pada Sistem <i>Batch</i> dan <i>Fed Batch</i> .	
Nama Pembimbing	Dr. Ir. Dyah Ismoyowati, M.Si	Dr. Ir. Chusnul Hidayat, M.Sc.	

B. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rupiah)

C. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rupiah)

D. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun
1	Sintesis Ester Etil Oleat Secara Enzimatis Menggunakan Lipase Kecambah Biji Jarak	Prosiding Seminar Nasional Masyarakat	2012

	Dalam Sistem <i>Fed-Batch</i>	Kelapa Sawit Indonesia (MAKSI)	
2	Production and Optimization of Oleic Acid Ethyl Ester Synthesis Using Lipase From Rice Bran (<i>Oryza sativa</i>) and Germinated Jatropha Seeds (<i>Jatropha curcas.L</i>) by Response Surface Methodology	Indonesian Journal of Biotechnology	(2012). 17 : 17-26

E. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 5 Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	The 2 nd International Conference on Green World in Business and Technology 2013	Production and Kinetic Study of Oleic Acid Ethyl Ester Synthesis Using Lipase From Germinated Jatropha Seeds (<i>Jatropha curcas.L</i>)	Yogyakarta, 23 Maret 2013.

F. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit

G. Perolehan HKI dalam 5–10 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	P/ID

H. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Sosial Lainnya yang Telah Diterapkan	Tahun	Tempat Penempatan	Respon Masyarakat

I. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Pemenang Hibah Program Kreatifitas Mahasiswa Nasional	Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.	2006
2	Juara I Lomba Teknologi dan	Dinas Pendidikan Nasional Daerah	2006

	Inovasi Mahasiswa	Istimewa Yogyakarta	
3	Pemenang Hibah Program Kreatifitas Mahasiswa Nasional	Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.	2007
4	Pemenang Hibah Program Kreatifitas Mahasiswa Nasional	Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional.	2008

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Penelitian Hibah Bersaing

Yogyakarta, 27 April 2014

Pengusul,



Indro Prastowo, M. Biotech

113/ BIOLOGI (BIOTEKNOLOGI UMUM)

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN PRODUK TERAPAN**



**IDENTIFIKASI GEN *pdh* dan *adh* DARI *Saccharomyces cerevisiae*
INDIGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH,
DAN SIWALAN UNTUK PRODUKSI ETANOL**

TIM PENGUSUL:

Trianik Widyaningrum, M.Si NIDN : 0514017001
Listiatie Budi Utami, M.Sc NIDN : 0018096902

Penelitian ini dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset,
Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan kontrak Penelitian
Nomor: 118/SP2H/LT/DRPM/IV/2017

**UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
Oktober, 2017**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : IDENTIFIKASI GEN pdc dan adh DARI Saccharomyces cerevisiae INDIGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH, DAN SIWALAN UNTUK PRODUKSI ETANOL

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : TRIANIK WIDYANINGRUM, S.Si, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
NIDN : 0514017001
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Pendidikan Biologi
Nomor HP : 0816682123
Alamat surel (e-mail) : trianaikwidyaningrum@gmail.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : Dra. LISTIATIE BUDI UTAMI M.Sc.
NIDN : 0018096902
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp , 52,500,000
Biaya Keseluruhan : Rp 202,500,000

Mengetahui,
Wakil Dekan FKIP UAD

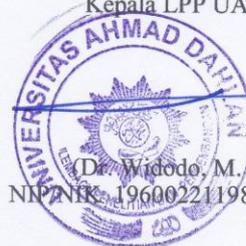


(Dr. Suparman, M. Si., DEA)
NIP/NIK 60110621

Kota Yogyakarta, 28 - 10 - 2017
Ketua,

(TRIANIK WIDYANINGRUM, S.Si, M.Si)
NIP/NIK 60970160

Menyetujui,
Kepala LPP UAD



(Dr. Widodo, M. Si)
NIP/NIK 196002211987091001



FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Jalan Pramuka No. 42 Sidikan Yogyakarta 55161
Telp. (0274) 563515, 511830, 371120 Fax. (0274) 564604

**SURAT PERNYATAAN
TELAH MENYELESAIKAN SELURUH PEKERJAAN
HIBAH PENELITIAN PRODUK TERAPAN TAHUN 2017**

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : Trianik Widyaningrum, M.Si
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Penelitian Produk Terapan (PPT)
Judul Penelitian : Identifikasi Gen *pdc* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol

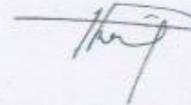
Dengan ini menyatakan bahwa, saya telah menyelesaikan seluruh pekerjaan penelitian dan telah menyusun Laporan Hasil Penelitian Produk Terapan Dikti Tahun Anggaran 2017 dengan judul dan skim sebagaimana tersebut di atas.

Demikian Pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui
Wakil Dekan FKIP


Dr. Suparman, M.Si., DEA
NIP. 60116621

Yogyakarta, 31 Oktober 2017
Ketua Peneliti,



Trianik Widyaningrum, M.Si
NIP. 60970160

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Ahmad Dahlan,


Widada S.
NIP. 1806091001

BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN (BAPP)
Nomor: BAPP-042/SP3/III/2017

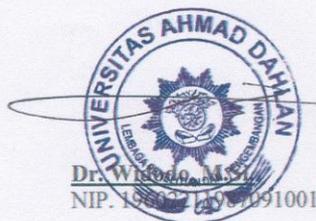
Pada hari ini Selasa, tanggal tigapuluh satu Oktober duaribu tujuh belas (31-10-2017), kami yang bertandatangan di bawah ini:

I.	N a m a	: Dr. Widodo, M.Si.
	Jabatan	: Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD).
Selanjutnya disebut PIHAK PERTAMA		
II.	Nama	: Trianik Widyaningrum, M.Si
	Jabatan	: Dosen/Peneliti
	Skim	: Penelitian Produk Terapan (PPT)
	Judul Penelitian	: Identifikasi Gen <i>pdh</i> dan <i>adh</i> dari <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol
Selanjutnya disebut PIHAK KEDUA .		

1. Dengan ini **PIHAK KEDUA** menyatakan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang telah dtugaskan oleh **PIHAK PERTAMA** berupa Penelitian Produk Terapan Dikti Tahun Anggaran 2017 sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Produk Terapan Dikti Tahun Anggaran 2017 Nomor: 118/SP2H/LT/DRPM/IV/2017 tanggal 17 April 2017
2. **PIHAK PERTAMA** menerima hasil pekerjaan yang telah diselesaikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagaimana tersebut di atas.

Yogyakarta, 31 Oktober 2017

PIHAK PERTAMA,



PIHAK KEDUA,

Trianik Widyaningrum, M.Si
NIY. 60970160

KATA PENGANTAR



Alhamdulillahirobbilalamin. Segala puji hanya bagi Allah yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penelitian yang berjudul Identifikasi Gen *pdh* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol ini dapat terselesaikan.

Dalam penulisan dan penyusunan laporan penelitian ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal, Penguatan Riset dan Pengembangan yang telah memberikan dana Hibah Penelitian Produk Terapan ini.
2. Dr. H. Kasiyarno, M.Hum. selaku Rektor Universitas Ahmad Dahlan.
3. Dr. Trikinasih Handayani, M.Si selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Ahmad Dahlan.
4. Dr. Widodo, M.Si selaku Kepala LPP Universitas Ahmad Dahlan
5. LPP dan Jajarannya yang telah memberikan bantuan dan motivasi.
6. Teknisi laboratorium yang telah membantu dalam penelitian ini
7. Suami dan anak-anakku yang telah memberikan motivasi hingga selesainya penelitian ini.
8. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua dan semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat sebagai ilmu tambahan dan semoga karya ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Yogyakarta, 31 Oktober 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN SERAH TERIMA LAPORAN AKHIR.....	iii
BERITA ACARA PENYERAHAN LAPORAN AKHIR.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
ABSTRAK	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Saccharomyces.....	4
2.2 Produksi bioetanol.....	5
2.3 Siklus Metabolisme Etanol pada Mikroorganisme.....	7
2.4 Nira.....	8
2.5 Tanaman Penghasil Nira.....	9
BAB III METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Sampling Nira dan Isolasi Khamir.....	12
3.2 Skrening khamir penghasil etanol.....	13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	30

DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 1. Siklus metabolisme etanol.....	9
Gambar 2. Tahapan Penelitian selama 3 tahun.....	12
Gambar 3. Hasil skrening dengan alkohol 70%.....	15
Gambar 4. Skrening khamir dengan agar darah	16
Gambar 5. pH Nira.....	16
Gambar 6. Kadar gula reduksi nira.....	17
Gambar 7. Kadar etanol nira.....	17

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Produksi Etanol dengan Berbagai Macam Bahan Baku.....	6
Tabel 2. Hubungan jenis Isolat dan Waktu fermentasi terhadap rata-rata kadar gula reduksi, pH, Kadar etanol, dan jumlah sel.....	18
Tabel 3. Hubungan jenis Isolat dan Waktu fermentasi terhadap rata-rata kadar gula reduksi, pH, Kadar bioetanol, dan jumlah sel pada penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$	20

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
Lampiran 1. Uji Statistik Hasil skrening tahap ketiga.....	30
Lampiran 2. Uji Statistik skrening tahap keempat dengan penambahan (NH ₄)H ₂ PO ₄	36
Lampiran 3. Foto-foto penelitian.....	39
Lampiran 4. Biodata Ketua dan anggota.....	41
Lampiran 5. Kontrak Penelitian.....	49

ABSTRAK

Sumber energi utama yang biasa digunakan oleh masyarakat umumnya berasal dari energi fosil khususnya minyak bumi yang juga merupakan sumber devisa negara. Krisis bahan bakar minyak menunjukkan bahwa cadangan energi fosil yang dimiliki Indonesia terbatas jumlahnya. Berdasarkan hal tersebut perlu dikembangkan berbagai energi alternatif yang dapat diperbaharui, ramah lingkungan, dan berkelanjutan, salah satunya adalah bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi khamir indigenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang potensial untuk produksi bioetanol.

Penelitian ini diawali dengan sampling nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Selanjutnya dilakukan isolasi khamir dari keempat sumber nira tersebut. Langkah berikutnya adalah skrining khamir penghasil etanol pada nira meliputi pH, kadar gula reduksi dengan metode DNS, waktu fermentasi (0,2,4,6) hari, jumlah sel, dan kadar etanol. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kondisi awal nira, yaitu pH nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan masing-masing 4,9; 3,7; 4,3; dan 4,7, kemudian gula reduksi nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan masing-masing 13,41 mg/mL, 17,09 mg/mL, 33,38 mg/mL, dan 43,35 mg/mL. Kadar etanol nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan masing-masing 1,53%, 4,4%, 0,3%, dan 0,23%. Berdasar data awal tersebut terlihat kadar etanol tertinggi pada nira kelapa, sehingga skrening berikutnya dengan menggunakan nira kelapa. Berdasar isolasi khamir dari keempat nira diperoleh isolat sejumlah 48. Berdasarkan skrining yang telah dilakukan diperoleh isolat yang unggul untuk produksi etanol sejumlah 14 isolat, yaitu A3A, A11E, A22A, A3B (dari aren), K1A, K1C1, K2C, K21A (dari kelapa), N1A, N3B, N3D, N3E (dari nipah), S1A, S2D (dari Siwalan) dengan kadar etanol berkisar antara 11,34%-16%. dengan waktu fermentasi terbaik 6 hari.

Kata Kunci: Eksplorasi, Nira, Khamir, isolat, etanol.

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan bakar fosil, terutama minyak bumi, batu bara, dan gas alam, merupakan sumber energi utama bagi sebagian besar industri dan masih merupakan bahan baku yang paling penting untuk menghasilkan energi di dunia. Saat ini, nilai pasar energi dunia sekitar 1,5 triliun dolar didominasi oleh bahan bakar fosil (Goldemberg, 2006). Namun, sumber-sumber ini tidak lagi dianggap berkelanjutan, dan ketersediaannya jauh lebih sedikit. Shafiee dan Topal (2009) meramalkan bahwa minyak, batubara, dan gas hanya akan tersisa rata-rata berturut-turut 35, 107, dan 37 tahun. Selain itu bahan bakar tersebut menimbulkan dampak lingkungan seperti pemanasan global akibat emisi gas rumah kaca (Naik dkk., 2010). Oleh karena itu, diperlukan sumber energi terbarukan, berkelanjutan, dan ramah lingkungan seperti biomassa. Biomassa ini biasanya dibagi dalam tiga kategori: kayu, residu dari pertanian, dan energi dari tanaman pertanian (Bringezu dkk., 2007).

Penggunaan sumber daya terbarukan untuk menghasilkan bahan bakar telah menciptakan dua generasi yang berbeda dalam produksi *biofuel*. Generasi *biofuel* pertama didasarkan pada biji-bijian atau sumber makanan dan didasari terutama oleh etanol, yaitu *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME), dan *Pure Plant Oil* (PPO) (Bringezu dkk., 2007). Namun, dampak lingkungan, efisiensi energi, dan eutrofikasi telah membatasi produksi biofuel generasi pertama. Kompetisi lahan tanaman energi dengan tanaman pangan telah muncul perdebatan, bahan bakar-versus-makanan diperburuk oleh kenaikan harga pangan, terutama bahan dari jagung, gandum, gula bit, singkong, sorgum manis, tebu, minyak lobak, kedelai, dan kelapa sawit (Vries dkk., 2010; Börjesson dan Tufvesson, 2011)

Departemen Energi Amerika Serikat melaporkan bahwa pada tahun 2005 produksi bioetanol jagung mencapai sekitar 15 miliar liter, 13 % dari total tanaman jagung AS digunakan untuk produksi bioetanol tersebut. Nilai-nilai tersebut diperkirakan dua kali lipat pada tahun 2010 oleh *Renewable Fuel Association*

(Cassman & Liska, 2007). Generasi kedua *biofuel* dihasilkan dari non-gandum dan sumber non-makanan seperti lignoselulosa dan biomassa alga (Simmons dkk., 2008; Naik dkk., 2010). Bahan baku lignoselulosa termasuk produk agroindustri seperti rumput, sayuran, dan residu kayu. Bahan tersebut dapat dibakar untuk menghasilkan panas dan listrik juga dapat digunakan untuk memperoleh bahan bakar cair (Naik dkk., 2010).

Penelitian produksi bioetanol melalui fermentasi telah banyak dipublikasi di luar negeri dengan menggunakan berbagai strain mikroorganisme, seperti bakteri, ragi (*yeast*), dan jamur dengan sumber karbon yang berbeda (Dien *et al.* 2003; Desai *et al.* 2004; Demain *et al.* 2005; Chinn *et al.* 2006; Stephanopoulos 2007; Riyanti dan Rogers 2009). Penelitian terbaru produksi bioetanol telah dilakukan melalui rekayasa genetik dengan menggunakan gen-gen penyandi bioetanol, yaitu piruvat dekarboksilase (*pdh*) dan alkohol dehidrogenase (*adh*) dari mikroorganisme dengan menggunakan bahan baku yang murah, seperti biomassa lignoselulosa dengan menambahkan gen pemecah selulosa menjadi gula sederhana. Bioetanol umumnya diproduksi dengan bantuan mikroorganisme jenis ragi dengan sumber karbon gula sederhana dari tetes tebu (molase), jagung atau tebu (Riyanti, 2011).

Selain tetes tebu (molase), bahan baku lain yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber etanol adalah Nira. Nira merupakan cairan manis mengandung gula pada konsentrasi 7,5 sampai 20,0 % yang terdapat di dalam bunga tanaman aren, kelapa, dan lontar yang pucuknya belum membuka dan diperoleh dengan cara penyadapan (Dyanti, 2002).

Penelitian tentang produksi etanol dengan berbagai macam bahan baku sudah dilakukan yaitu oleh Sebayang (2006), Wardani dan Pertiwi (2013) menggunakan molase, Wijaya dan Arthawan (2012) menggunakan nira kelapa, Chairul dan Yenti (2013) serta Hadi dkk.(2013) menggunakan nira nipah.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan berkaitan dengan nira dan molase sebagai bahan pembuatan etanol dengan memanfaatkan *Saccharomyces cerevisiae*, kebaruan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan

identifikasi *Saccharomyces cerevisiae indegenous* dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Hasil dari identifikasi tersebut kemudian dicari species yang paling berpotensi untuk produksi etanol. Selain itu akan dilakukan identifikasi gen *pdh* (piruvat dekarboksilase) yang berperan mengubah piruvat menjadi asetaldehid dan gen *adh* (Alkohol dehidrogenase) yang mengubah asetaldehid menjadi etanol dalam *Saccharomyces cerevisiae*. Diharapkan dari hasil penelitian ini diperoleh isolat yang paling potensial untuk produksi etanol. Setelah diketahui adanya gen *pdh* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* indegenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan diharapkan gen tersebut dapat dimanipulasi untuk produksi etanol pada skala industri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Khamir *indegenous* dari nira apakah yang paling berpotensi untuk produksi etanol?
2. Bagaimanakah kondisi optimum fermentasi untuk produksi etanol?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengidentifikasi khamir *indigenous* nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang paling berpotensi untuk produksi etanol.
2. Untuk mengetahui kondisi optimum fermentasi untuk produksi etanol.

BAB II. KAJIAN PUSTAKA

2.1 *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan pada Fermentasi Glukosa

Saccharomyces cereviceae merupakan khamir sejati tergolong eukariotik yang secara morfologi membentuk blastospora berbentuk lonjong, silindris, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya. Khamir *S. cereviceae* dapat membelah diri melalui “*budding cell*”. Reproduksiya dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel. Penampilan makroskopik mempunyai koloni berbentuk bulat, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-8 buah (Nikon, 2004). Khamir ini bersifat nonpatogenik dan nontoksik, sehingga sejak dahulu banyak digunakan dalam berbagai proses fermentasi seperti pada pembuatan roti dan alkohol. Khamir *S. cerevisiae* tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan aktivitasnya pada suhu 4-32 °C, memerlukan kondisi lingkungan yang cocok untuk pertumbuhannya, yaitu nutrisi sebagai sumber energi terutama gula, pH optimum 4-5, temperatur optimum 28-30 °C serta kebutuhan akan oksigen terutama pada awal pertumbuhan (Hidayat, 2006).

Khamir *S. cerevisiae* memetabolisme glukosa melalui jalur Embden-Meyerhof (EM) (Lin and Tanaka, 2006) dan merupakan khamir fermentatif kuat. Apabila ada oksigen *S. cerevisiae* juga dapat melakukan respirasi yaitu mengoksidasi gula menjadi karbon dioksida dan air. Oleh karena itu bergantung pada kondisi pertumbuhan, Khamir *S. cerevisiae* dapat mengubah sistem metabolismenya dari fermentatif menjadi oksidatif (respirasi). Khamir *S. cerevisiae* bersifat anaerob yang mampu mengubah asam piruvat menjadi etanol melalui proses fermentasi. Khamir *S. cerevisiae* juga paling sering digunakan dalam produksi etanol karena memenuhi syarat untuk fermentasi etanol. Pertumbuhan khamir optimal pada pH 4,0-4,5. Khamir tumbuh dengan baik pada suasana aerob namun untuk khamir fermentatif dapat tumbuh pada suasana anaerob. Kadar gula yang optimal untuk pertumbuhan khamir adalah 10 %, tetapi

kadar gula yang optimal untuk permulaan fermentasi adalah 16 % (Landry dkk., 2006)

2.2 Produksi Bioetanol

Bioetanol (*bioethanol*) merupakan etanol (etil alkohol) yang proses produksinya menggunakan bahan baku alami dan proses biologis. Pengembangan bioenergi seperti bioetanol dari biomassa sebagai sumber bahan baku yang dapat diperbarui merupakan satu alternatif yang memiliki nilai positif dari aspek sosial dan lingkungan (Samsuri dkk., 2007). Bioetanol berbeda dengan etanol sintetik yang diperoleh dari sintesis kimiawi senyawa hidrokarbon. Etanol yang digunakan sebagai bahan bakar kendaraan memiliki struktur kimia yang persis sama dengan etanol yang ditemukan pada minuman keras. Etanol yang digunakan untuk bahan bakar disebut dengan *Fuel Grade Ethanol (FGE)* dengan tingkat kemurnian 99 %.

Bahan baku yang digunakan untuk produksi bioetanol ada 4 macam yaitu

a. Gula (*glucose*)

Gula (glukosa) merupakan bentuk bahan baku yang paling sederhana dengan rumus kimia $C_6H_{12}O_6$, berbeda dengan pengertian gula sehari-hari yang mengandung sukrosa, laktosa dan fruktosa. Gula dapat diperoleh dari tebu (*sugarcane*) melalui hasil sampingan produksinya berupa tetes (*molases*).

b. Pati (*starch*)

Pati banyak ditemukan pada jagung, singkong, sagu dan beragam makanan pokok manusia yang mengandung karbohidrat. Rumus kimia dari pati adalah $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan jumlah n antara 40 – 3.000. Sebagai bahan baku bioetanol, pati membutuhkan proses untuk memecah ikatan kimianya menjadi glukosa.

c. Selulosa (*cellulose*)

Selulosa merupakan polisakarida dengan rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_n$, dengan jumlah n ribuan hingga lebih dari puluhan ribu, yang membentuk dinding tanaman dan kayu. Selulosa diperkirakan akan mendominasi bahan baku bioetanol di masa mendatang. Sebagai bahan baku bioetanol, selulosa membutuhkan pengolahan awal yang lebih intensif dibandingkan dengan bahan

baku lain. Untuk melakukan proses *hydrolysis* (merubah struktur selulosa menjadi glukosa) dapat ditempuh menggunakan penambahan asam yang dilarutkan pada suhu dan tekanan tinggi. Proses tersebut membutuhkan energi yang cukup besar sehingga *net energy gain* yang dihasilkan menurun (Atmojo, 2010).

d. Tetes Tebu (Molase)

Tetes tebu (molase) merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir yang masih mengandung gula dan asam-asam organik sehingga merupakan bahan baku yang baik untuk pembuatan etanol. Dibandingkan bahan baku lain, tetes tebu (molase) mempunyai keunggulan yaitu selain harganya murah juga mengandung 50 % gula sederhana yang dapat difermentasi langsung oleh khamir menjadi etanol tanpa *pretreatment*. Molase merupakan limbah pengolahan tebu dengan kuantitas sebesar 5 % dari total produksi. Molase umumnya dimanfaatkan sebagai salah satu bahan baku bioethanol dengan koefisiensi konversi sebesar 52 % dari total biomassa yang digunakan (Wardani dkk., 2013). Produksi Etanol dengan berbagai macam bahan baku dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Produksi Etanol dengan Berbagai Macam Bahan Baku

No.	Bahan Baku	Kondisi Fermentasi	Produksi Etanol (%)	Pustaka
1	Molase	Pemberian <i>bead</i> 10 g, Waktu inkubasi 36 jam	12,94	Sebayang, 2006
2	Molase	Kultur murni <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 10 %	8,792	Wardani dan Pertiwi, 2013
3	Nira kelapa	Fermentasi secara alami tanpa khamir	94 (destilasi 14 kali)	Wijaya dan Arthawan, 2012
4	Nira nipah	Kultur murni <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pH 4,5, fermentasi 36 jam	14	Chairul dan Yenti, 2013
5	Nira nipah	Khamir dari roti Waktu fermentasi 75,3-78 jam	99,56 (destilasi berulang-ulang)	Hadi dkk., 2013
6	Nira aren	Kultur murni <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pH 4,5 waktu fermentasi 72 jam	7	Ariyani dkk., 2015
7	Bagas	Enzim <i>xylanase</i> pH 5	2,709	Samssuri dkk., 2007
8	<i>Sargassum</i> sp	Fermentasi dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan waktu fermentasi 48 jam dan dilanjutkan dengan enzim <i>sellulase</i>	89	Borines dkk., 2013
9	Mikro dan makroalgae	Fermentasi dengan khamir, <i>Saccharifikasi</i> dengan Enzim <i>Alpha glukomylase</i>	80	John dkk., 2011
10	<i>Sargassum duplicatum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> waktu inkubasi 72 jam	0,0451±0,0098	Saputra dkk., 2012

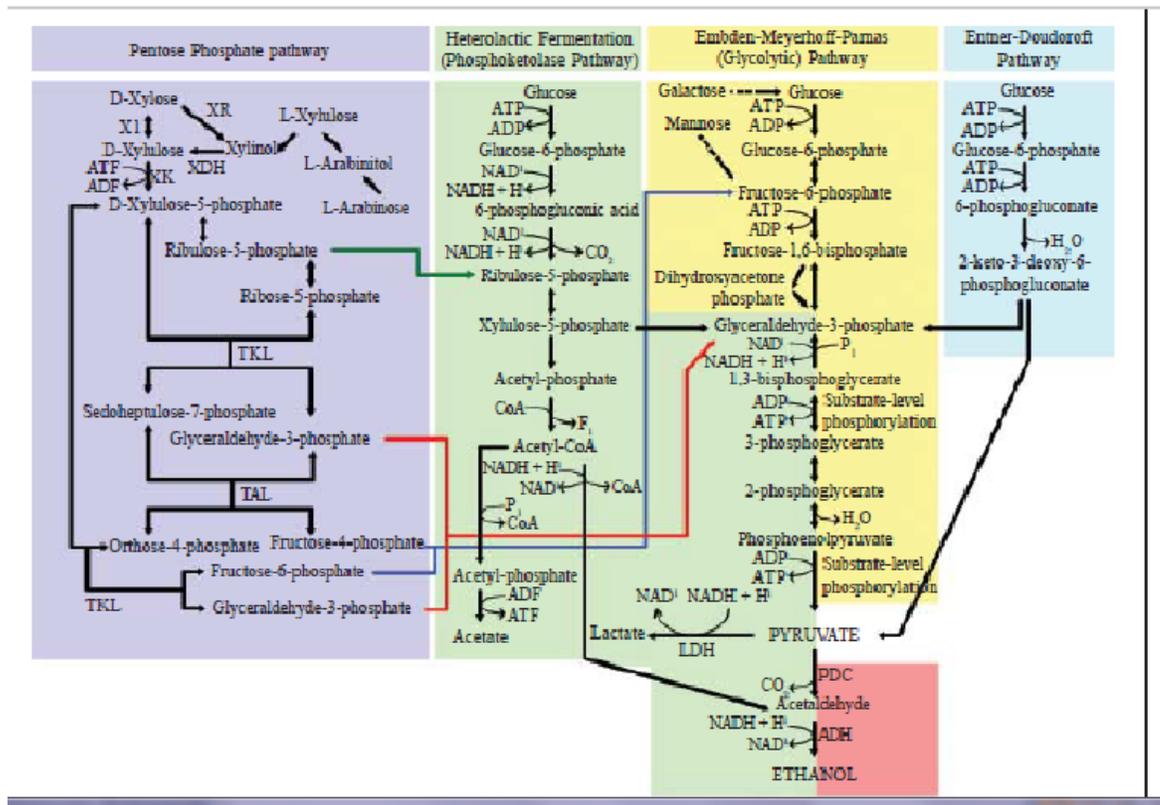
2.3 Siklus Metabolisme Etanol pada Mikroorganisme

Di dalam sel mikroorganisme, gula yang dapat difermentasi akan diubah menjadi senyawa antara (*intermediate*) umum, piruvat, melalui tiga siklus utama, yaitu Emden- Meyerhoff-Parnas (EMP), Entner-Doudoroff (ED), dan siklus pentosa fosfat (Gambar 1). Siklus metabolisme yang umum digunakan oleh mikroorganisme untuk memecah gula adalah siklus EMP (atau lebih terkenal dengan nama glikolisis). Siklus ini dapat terjadi pada kondisi aerobik maupun anaerobik, dan menghasilkan energi dalam bentuk adenosin trifosfat (ATP) melalui fosforilasi substrat (Prescott dan Harley, 2002). Siklus ED sangat mirip dengan EMP, dan kedua siklus berpusat pada piruvat. Namun, siklus EMP

menghasilkan 2 mol ATP per mol glukosa yang digunakan, sedangkan siklus ED hanya menghasilkan 1 mol ATP. Sebagai konsekuensinya, biomassa lebih banyak dihasilkan pada siklus EMP. Oleh karena itu, organisme dengan siklus ED ini tidak diharapkan untuk produksi etanol. *Zymomonas mobilis*, misalnya, menggunakan siklus ED, menghasilkan etanol lebih tinggi (5–10 %) dan produktivitas etanol lebih tinggi (2,50 kali), tetapi menghasilkan biomassa yang lebih rendah dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae*, yang mempunyai siklus EMP (Dien dkk., 2003). Meskipun demikian, kedua mikroorganisme tersebut mengandung siklus homoetanol yang sangat efisien, yang mengubah piruvat menjadi asetaldehida dengan menggunakan piruvat dekarboksilase (*pdh*), selanjutnya menjadi etanol dengan menggunakan alkohol dehidrogenase (*adh*) (Gambar 1).

2.4 Nira

Nira merupakan cairan manis mengandung gula pada konsentrasi 7,5 sampai 20,0 % yang terdapat di dalam bunga tanaman aren, kelapa dan lontar yang pucuknya belum membuka dan diperoleh dengan cara penyadapan. Komposisi nira dari suatu jenis tanaman dipengaruhi beberapa faktor yaitu antara lain varietas tanaman, umur tanaman, kesehatan tanaman, keadaan tanah, iklim, pemupukan, dan pengairan. Air dalam nira merupakan bagian yang terbanyak yaitu antara 75 – 90 %, sukrosa terbanyak berkisar 12,30 – 17,40 %, gula reduksi antara 0,50 – 1,00 %, dan sisanya merupakan senyawa organik serta anorganik. Gula reduksi dapat terdiri dari heksosa, glukosa, dan fruktosa, serta mannanosa dalam jumlah yang sedikit sekali. Bahan organik terdiri dari karbohidrat (tidak termasuk gula), protein, asam organik, asam amino, zat warna, dan lemak. Bahan anorganik terdiri dari garam mineral (Kusumanto, 2010).



(Dimodifikasi dari Zhang dkk., 1995; Ingram dkk., 1998; Zaldivar dkk., 2001; Prescott dan Harley, 2002)

Gambar 1. Siklus metabolisme etanol

2.5 Tanaman penghasil nira

Negara Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan hasil pertanian, salah satunya adalah tanaman komoditi penghasil perkebunan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Salah satu komoditi tersebut adalah Nira. Nira adalah cairan yang disadap dari pohon Keluarga Palma, misalnya pohon aren, nipah, kelapa, dan siwalan. Nira mengandung gula antara 10-15 %. Nira merupakan hasil asimilasi dari daun dalam bentuk karbohidrat dan disalurkan ke biji melalui jaringan floem yang secara alami diubah menjadi gula (glukosa) dan berbentuk nira. Nira tersebut dapat dihasilkan antara 4-5 Liter /hari-pohon (dua kali penyadapan), bergantung pada tingkat kesuburan pohon palm. Nira aren segar sampai kini masih digunakan untuk membuat adonan di perusahaan-perusahaan roti atau jamu tradisional (Chairul dan Yenti, 2013)

2.5.1 Aren (*Arenga pinnata* Merr)

Aren adalah salah satu keluarga palma yang serbaguna, dapat tumbuh pada ketinggian 0-1.500 meter di atas permukaan laut. Hampir semua bagian tanaman aren berguna bagi manusia, baik untuk pangan maupun bahan baku industri dan energi terbarukan. Setiap pohon aren rata-rata menghasilkan 15 Liter nira/hari dengan rendemen gula sekitar 12 % yang dapat disadap terus-menerus selama 3 – 5 tahun. Kemampuan petani menyadap aren rata-rata 15 pohon/orang/hari sehingga setiap petani dapat menghasilkan nira rata-rata 225 Liter/hari yang dapat menghasilkan etanol berkadar 80 % sekitar 19 Liter/hari atau 570 Liter/bulan. Secara teoritis potensi aren sebagai penghasil gula lebih tinggi dibandingkan tebu per satuan luas lahan (David, 2007).

2.5.2 Kelapa (*Cocos nucifera* L.)

Tanaman kelapa sebagai tanaman penghasil bahan bakar nabati, potensinya lebih baik dibandingkan jenis tanaman perkebunan lainnya, terutama penggunaan minyak murninya sebagai pengganti minyak tanah dengan memanfaatkan kompor bertekanan yang sesuai. Indonesia dan Filipina adalah dua produsen kelapa terbesar di dunia dengan luas area masing-masing 3,7 juta ha dan 3,1 juta ha. Potensi produksi nira kelapa adalah 360.000 s/d 720.000 liter/tahun/ha. Nira kelapa memiliki sifat sangat cepat terfermentasi sehingga kurang menguntungkan untuk diolah menjadi gula merah. Kondisi ini menambah besarnya kesempatan pemanfaatan nira kelapa untuk keperluan lain yaitu sebagai sumber BBN (Bahan Bakar Nabati) (Prastowo, 2007 dalam Wijaya & Arthawana, 2012).

2.5.3 Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb)

Indonesia memiliki potensi hutan nipah terluas di dunia dengan luas 700.000 hektar (Tamunaidu & Saka, 2011). Nipah adalah sejenis palem (palma) yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang-surut air laut.. Salah satu alternatif pemanfaatan tanaman nipah adalah sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Total Komposisi kimia nira nipah adalah 19,5 % berat, terutama terdiri dari sukrosa, glukosa dan fruktosa (Tamunaidu & Saka, 2013). Tamunaidu & Saka (2013) juga menginformasikan bahwa potensi pohon nipah dapat

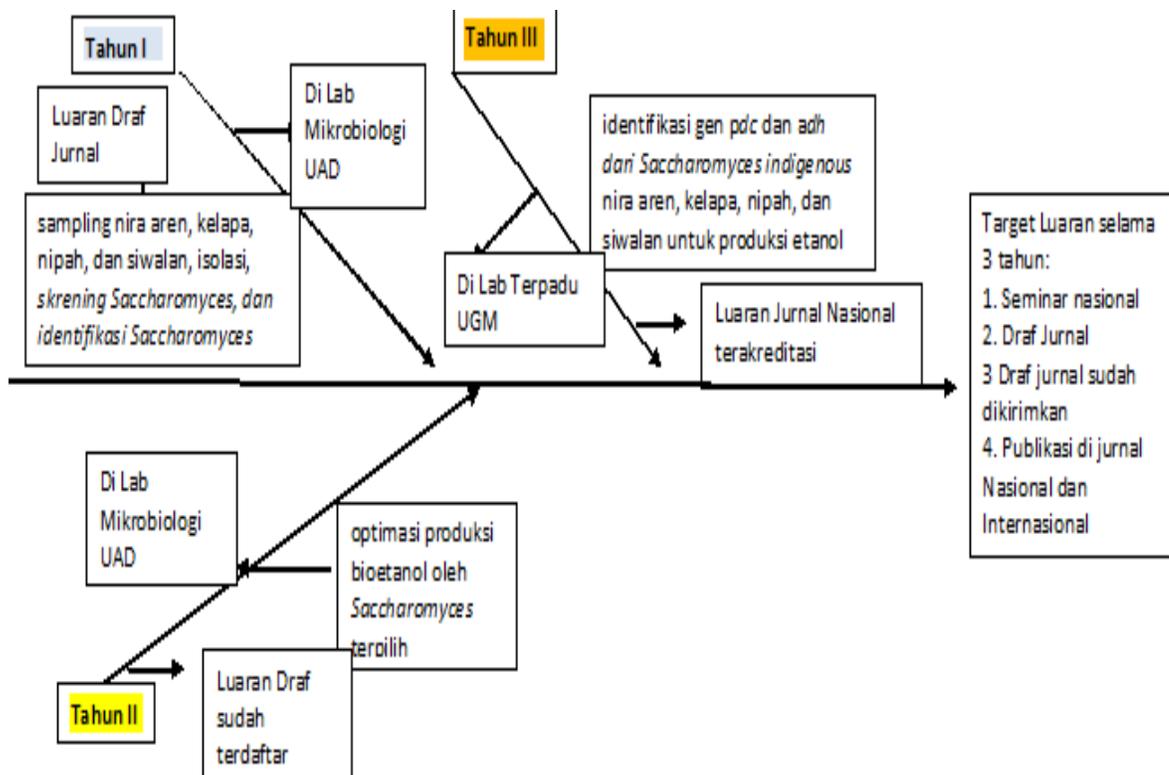
menghasilkan 0,4 sampai 1,2 L nira nipah per pohon per hari. Menurut Dahlan dkk. (2009) nira nipah mengandung sukrosa sebanyak 13-17 %, ini merupakan suatu bahan yang sangat potensial untuk diolah menjadi bioetanol. Dalam proses fermentasi nira, oksigen tetap diperlukan walaupun sedikit, Khamir *S. cerevisiae* membutuhkan O₂ untuk mempertahankan kehidupan dan menjaga konsentrasi sel tetap tinggi (Hepworth, 2005).

2.5.4 Siwalan (*Borassus flabellifer* Linn)

Borassus flabellifer Linn atau lontar dapat ditemukan di negara-negara tropis seperti Thailand, Malaysia, Indonesia, India, Myanmar, Sri Lanka, dan Kamboja. Bagian yang paling penting produk pohon lontar adalah getah (nira), sirup, dan kue. Proses penyadapan nira lontar dengan melukai bagian bunga, sehingga merangsang aliran nira. Tiga sampai enam perbungaan diikat bersama-sama dan dimasukkan ke dalam wadah yang cocok untuk koleksi nira, biasanya menggunakan pot gerabah (Sri Lanka) atau tabung bambu (Thailand). Mikroorganisme menggunakan gula dalam nira sebagai sumber energi dan hasil fermentasinya. Fermentasi didominasi oleh khamir, khususnya *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri asam laktat. Nira lontar kaya gula (10-17 %), sehingga cepat terjadi fermentasi dan terjadi konversi menjadi asam dan etanol (Naknean dkk., 2015).

BAB III. METODE PENELITIAN

Penelitian tentang identifikasi gen *pdh* dan *adh* dari *Saccharomyces indigenus* nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan untuk produksi etanol akan dilakukan dengan tiga tahap dalam 3 tahun, yaitu tahun pertama sampling nira, isolasi, dan *skrening* dan identifikasi *Saccharomyces*. Tahun kedua optimasi produksi bioetanol oleh *Saccharomyces* terpilih. Tahun ketiga identifikasi gen *pdh* dan *adh* dari *Saccharomyces indigenus* nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan untuk produksi etanol (Gambar 2).



Gambar 2. Tahapan Penelitian selama 3 tahun

3.1 Sampling Nira dan Isolasi Khamir

Tanaman palma (aren, kelapa, nipah, dan siwalan diambil nira masing-masing sebanyak 250 mL (3 ulangan) ditampung dalam botol dan dimasukkan dalam kotak pendingin untuk dibawa ke laboratorium. Sampel nira 25 mL ditambah 225 mL garam fisiologis (10^{-1}) dibuat seri pengenceran sampai 10^{-5} . Suspensi nira pada masing-masing pengenceran diambil 0,1 mL dimasukkan ke dalam Cawan

Petri steril dan dituang 15 mL medium YEPD agar secara *pourplate* dan dihomogenkan. Kultur diinkubasi pada 25 °C selama 48 jam. Setiap jenis koloni khamir yang tumbuh dihitung kemudian dimurnikan. Keragaman khamir pada masing-masing jenis nira ditentukan berdasarkan indeks diversitas Simpson (Persamaan 1).

$$D = \frac{\sum n(n-1)}{N(N-1)} \quad \dots\dots(1) \quad (\text{Matahelumual, 2000})$$

Keterangan:

n =Jumlah individu untuk masing-masing species

N = Jumlah total individu

Setiap koloni khamir dimurnikan dengan metode *spread plate*. Satuan koloni khamir dimasukkan ke dalam 10 mL garam fisiologis kemudian dibuat seri pengenceran sampai 10⁻⁶. Suspensi kultur khamir diambil 0,1 mL kemudian disebar (spread) dengan batang gelas *Drigalski* pada permukaan media agar YMEA dalam Cawan Petri. Kultur khamir diinkubasi pada suhu 25 °C selama 48 jam (Heard dan Armada, 1986 dalam Blanco dkk., 2012). Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi Nira meliputi pH dan kadar gula. Hasil pengukuran karakterisasi ditabulasikan dan dianalisis ragam 5 % dengan program SPSS. Stok murni khamir selanjutnya diskruining untuk mendapatkan isolat yang paling tinggi potensinya pada produksi etanol.

3.2 Skrining Khamir Penghasil Etanol

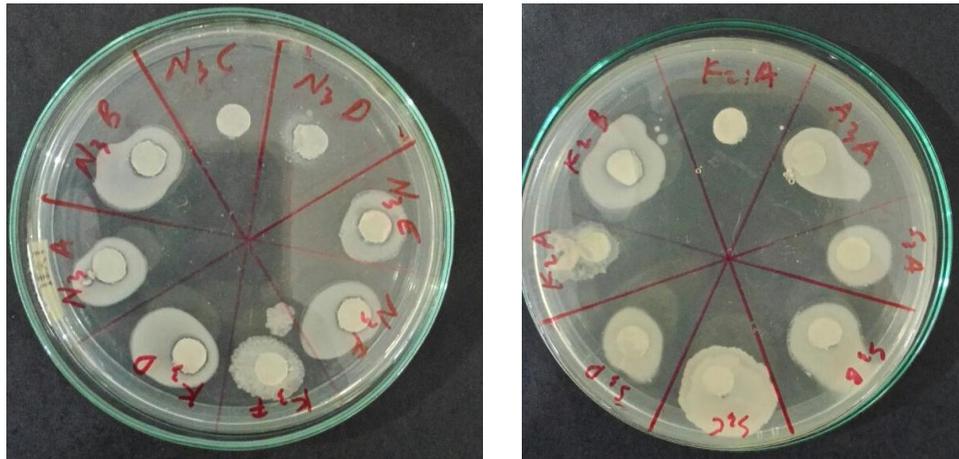
Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan jenis nira, isolat khamir, dan waktu inkubasi. Parameter yang diamati meliputi gula reduksi, jumlah sel khamir, dan kadar etanol. Langkah kerjanya diawali dengan pengambilan isolat murni sebanyak 1 ose ditumbuhkan dalam 100 mL medium subkultur diinkubasi 24 jam, dibuat seri pengenceran hingga 10⁻⁹ diukur OD, dihitung jumlah sel yang tumbuh, kemudian dibuat kurva standar dan persamaan regresinya. Kultur khamir 25 ml dicampur dengan 225 mL nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan, masing-masing diinkubasi waktu 0, 2, 4, dan 6 hari, kemudian diukur pH, diukur OD nya dihitung jumlah selnya, gula reduksi,

dan kadar etanol dengan GC-MS, masing-masing perlakuan diulang 3 kali (Heard dan Armada 1986) dalam Blanco dkk. (2012). Data yang diperoleh ditabulasikan dan dianalisis ragam 5 % menggunakan program SPSS versi 16. Bila perlakuan memberikan pengaruh yang signifikan dilanjutkan dengan uji beda nyata LSD. Berdasarkan uji LSD tersebut diperoleh isolat terpilih.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian diawali dengan sampling nira aren dan kelapa di Samigaluh Kulonprogo, sampling nira nipah di Cilacap, dan sampling nira siwalan di Rembang Jawa Tengah. Nira yang didapatkan kemudian diisolasi untuk mendapatkan isolat khamir. Dari hasil isolasi didapatkan 48 isolat khamir, yaitu 15 isolat dari aren, 11 isolat dari kelapa, 11 dari nipah, dan 11 dari siwalan. Dari 48 isolat kemudian dikelompokkan berdasar morfologi sel-selnya, dan didapatkan 18 isolat, yaitu 5 dari Aren, 5 dari kelapa, 4 dari Nipah, dan 4 dari siwalan yang selanjutnya diberi kode berdasar saat isolasi, yaitu A3B, A11E, A3A, A22A, A11B (dari Aren), K3D, K21A, K1C1, K2C, K1A (dari Kelapa), N3D, N3E, N1A, N3B (dari Nipah), dan S3D, S1A, S2D, S1C (dari Siwalan).

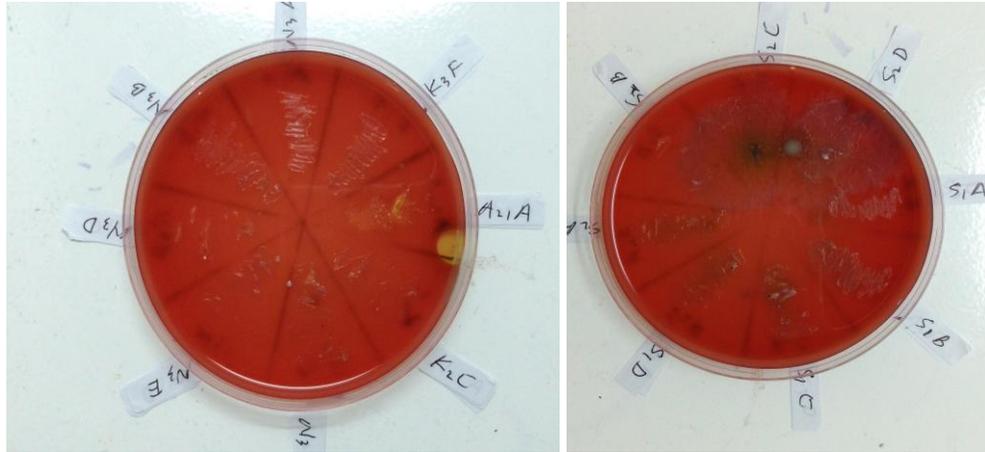
Setelah mendapatkan isolat murni, langkah selanjutnya adalah melakukan skrening untuk mendapatkan isolat yang produktif dalam menghasilkan etanol. Skrening pertama dilakukan dengan memperlakukan isolat dengan etanol 70% untuk melihat kemampuan hidup isolat tersebut pada etanol dengan hasil seperti pada Gambar 3 berikut:



Gambar 3. Hasil skrening dengan alkohol 70%

Berdasar Gambar 3 terlihat semua isolat dapat tumbuh, membuktikan bahwa isolat tersebut dapat bertahan hidup pada alkohol sampai kadar 70%. Selanjutnya

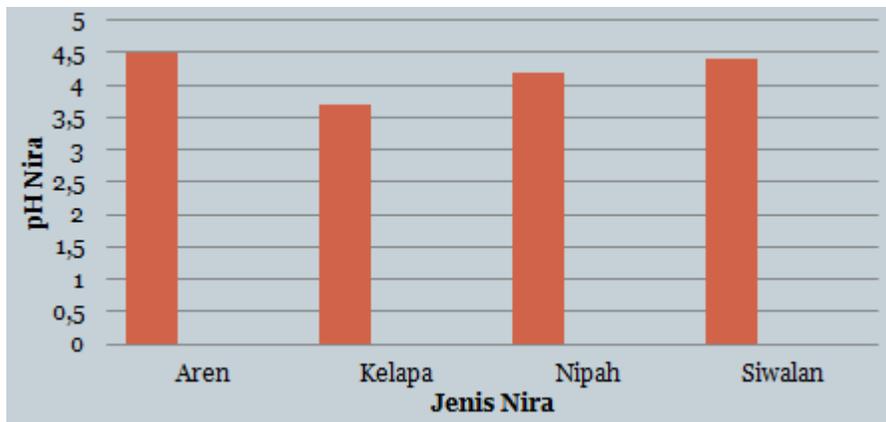
dilakukan skrening tahap kedua dengan menggunakan agar darah untuk melihat patogenitas pada darah dengan hasil seperti pada Gambar 4 berikut.



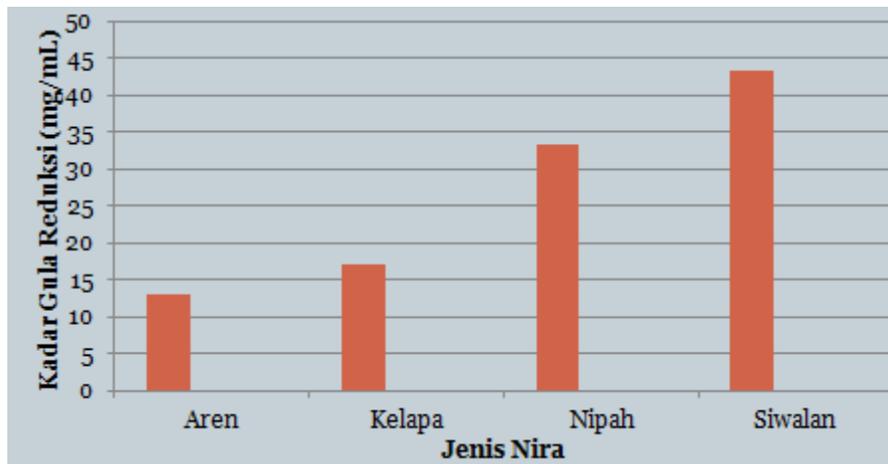
Gambar 4. Skrening khamir dengan agar darah

Berdasar Gambar 4 terlihat semua isolat dapat tumbuh dan tanpa menghasilkan zona yang berbeda, hal tersebut menunjukkan bahwa isolat khamir dari nira tidak patogen.

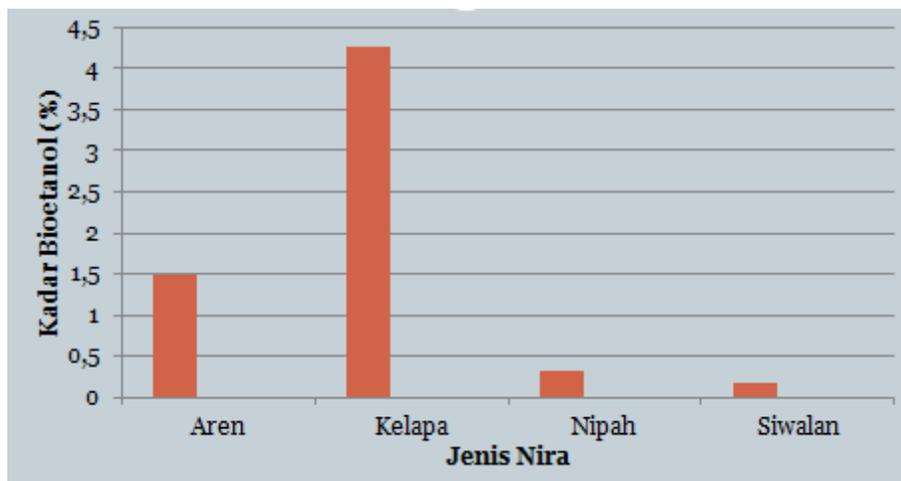
Selain dilakukan isolasi isolat, nira hasil sampling juga diukur kondisi awalnya meliputi pH, kadar gula reduksi, dan kadar etanol dengan hasil seperti pada Gambar 5,6, dan 7 berikut.



Gambar 5. pH Nira



Gambar 6. Kadar gula reduksi nira



Gambar 7. Kadar etanol nira

Berdasar hasil pengujian awal nira terlihat kadar etanol tertinggi pada nira kelapa, kemudian dilakukan skrening tahap ketiga untuk mendapatkan isolat unggul yang produktif dalam produksi etanol. Skrening dilakukan dengan melihat jenis isolat, waktu fermentasi, kadar gula reduksi, pH media, kadar etanol, dan jumlah sel dengan hasil seperti pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hubungan jenis Isolat dan Waktu fermentasi terhadap rata-rata kadar gula reduksi, pH, Kadar etanol, dan jumlah sel.

NO	NAMA ISOLAT	WAKTU FERMENTASI	Rata-rata			
			Kadar gula mg/mL	pH	Kadar Etanol (%)	Jumlah Sel
1	N3D	0 HARI	9,47	4,47	4,2	1661,62
		2HARI	37,97	4,29	6,84	482,93
		4 HARI	36,16	4,21	12	4025,42
		6 HARI	36,02	4,22	12	4069,11
2	N3E	0 HARI	10,45	4,47	4,2	1191,78
		2HARI	39,22	4,33	8,4	15524,55
		4 HARI	35,19	4,14	11,36	30624,42
		6 HARI	35,05	4,11	13,2	30745,55
3	N1A	0 HARI	8,64	4,52	3	1982,57
		2HARI	37,27	4,31	7,16	18906,57
		4 HARI	32,97	4,31	12,6	44145,25
		6 HARI	32,27	4,31	12,6	47778,84
4	N3B	0 HARI	9,34	4,5	3,6	3122,17
		2HARI	39,22	4,29	7,29	6353,72
		4 HARI	34,36	4,35	11,05	10164,20
		6 HARI	32,13	4,3	12,2	10206,90
5	A3B	0 HARI	10,86	4,51	4,8	4622,76
		2HARI	40,05	4,34	9,15	18811,75
		4 HARI	33,66	4,31	9,6	35572,34
		6 HARI	33,52	4,29	12,8	36835,59
6	A11E	0 HARI	9,34	4,42	6,32	1046,08
		2HARI	39,22	4,34	6,4	2887,82
		4 HARI	34,36	4,34	9,76	4574,43
		6 HARI	26,43	4,22	9,92	4618,75
7	A3A	0 HARI	8,50	4,58	4,8	1047,55
		2HARI	37,97	4,39	6,45	1910,02
		4 HARI	37,27	4,34	12	3365,79
		6 HARI	37,14	4,3	13,4	3505,69
8	A22A	0 HARI	9,89	4,58	2,7	680,50
		2HARI	39,22	4,3	3,66	1771,84
		4 HARI	37,83	4,29	9	3562,33
		6 HARI	37,83	4,2	9,4	3827,59
9	A11B	0 HARI	9,47	4,48	4,8	-23461,20
		2HARI	38,53	4,35	5,2	4043,46
		4 HARI	36,58	4,34	10,4	30406,54

		6 HARI	31,44	4,26	10,4	32261,59
10	K3D	0 HARI	9,06	4,55	3,5	19910,44
		2HARI	40,05	4,37	9	62824,92
		4 HARI	37,27	4,17	11,7	123791,98
		6 HARI	35,05	4,13	13	127671,70
11	K21A	0 HARI	9,47	4,52	4,2	3086,93
		2HARI	41,03	4,45	10,26	12067,01
		4 HARI	37,83	4,31	13	23697,66
		6 HARI	36,16	4,31	13	23828,02
12	K1C1	0 HARI	9,47	4,57	3,5	3978,21
		2HARI	39,22	4,49	3,79	22187,38
		4 HARI	32,13	4,38	12,6	44955,87
		6 HARI	32,27	4,36	13	45603,18
13	K2C	0 HARI	9,89	4,54	4,2	592,74
		2HARI	40,05	4,41	9,78	3636,55
		4 HARI	38,53	4,31	13,8	7480,01
		6 HARI	35,19	4,31	14,2	8011,38
14	K1A	0 HARI	8,36	4,54	1,8	-2746,28
		2HARI	37,27	4,49	7,58	126,97
		4 HARI	33,38	4,46	12,8	6585,07
		6 HARI	28,38	4,38	16	6967,72
15	S3D	0 HARI	9,61	4,41	3	36046,92
		2HARI	37,27	4,42	9	191087,02
		4 HARI	36,16	4,3	10,8	319560,15
		6 HARI	35,61	4,3	11,88	333240,16
16	S1A	0 HARI	10,17	4,47	5,2	3133,34
		2HARI	37,97	4,46	5,7	6404,31
		4 HARI	36,58	4,42	11,2	9687,59
		6 HARI	27,96	4,42	14,4	9876,38
17	S2D	0 HARI	11,56	4,46	6	1980,25
		2HARI	40,05	4,42	6	5511,00
		4 HARI	30,60	4,21	10,2	8860,34
		6 HARI	22,26	4,21	13,35	8962,11
18	S1C	0 HARI	9,75	4,43	5,2	-1393,94
		2HARI	40,05	4,4	5,73	28827,08
		4 HARI	34,36	4,34	9,76	56442,84
		6 HARI	27,27	4,32	10,4	56889,45

Keterangan: A isolat dari nira Aren

K isolat dari nira kelapa

N isolat dari nira Nipah

S isolat dari nira siwalan

Setelah dilakukan uji statistik (pada Lampiran 1) menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi yang menghasilkan kadar etanol tertinggi adalah waktu fermentasi 6 hari, dengan isolat unggul sejumlah 7 isolat, yaitu A3A isolat dari nira aren, K1C1, K1A, K2C isolat dari nira kelapa, N3E isolat dari nira nipah, S1A dan S2D isolat dari nira siwalan, dengan kadar etanol masing-masing 13,4%, 13%, 16%, 14,2%, 13,2%, 14,4% dan 13,35% .

Berikutnya dilakukan skrening tahap ke empat dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ dengan tujuan untuk menambah kandungan N sebagai sumber hara bagi pertumbuhan khamir. Berdasar skrening tersebut diperoleh hasil seperti pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hubungan jenis Isolat dan Waktu fermentasi terhadap rata-rata kadar gula reduksi, pH, Kadar bioetanol, dan jumlah sel pada penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$

NO	NAMA ISOLAT	WAKTU FERMENTASI	Rata-rata			
			Rata-rata Kadar gula (mg/mL)	pH	rata-rata Kadar Etanol (%)	rata-rata Jumlah Sel
1	N3D	0 HARI	64,36	4,84	1,18	2559,98
		2HARI	45,02	4,72	2,44	3108,03
		4 HARI	44,81	4,38	10,44	4613,19
		6 HARI	44,39	4,41	11,97	4926,93
2	N3E	0 HARI	57,36	4,78	1,4	23821,40
		2HARI	57,74	4,38	6,5	29837,13
		4 HARI	55,78	4,33	10,44	36196,04
		6 HARI	41,81	4,34	12	37447,63
3	N1A	0 HARI	63,81	4,65	1,1	37565,52
		2HARI	59,32	4,38	7	54587,72
		4 HARI	59,53	4,33	10,08	60610,96
		6 HARI	55,78	4,37	11,52	66470,52
4	N3B	0 HARI	62,47	4,64	1,2	8318,27
		2HARI	53,94	4,25	2,4	10448,91
		4 HARI	45,94	4,31	4,72	11663,71
		6 HARI	46,60	4,27	12,16	11720,65
5	A3B	0 HARI	62,30	4,76	1,12	30158,42
		2HARI	57,82	4,31	6,4	37602,56
		4 HARI	45,89	4,39	10,8	45069,26

		6 HARI	43,23	4,37	11,78	45069,26
6	A11E	0 HARI	62,08	4,74	1,12	3603,69
		2HARI	56,49	4,42	7	4148,90
		4 HARI	50,69	4,33	10,08	4620,97
7	A3A	6 HARI	44,60	4,34	11,78	5150,67
		0 HARI	62,08	4,54	1,12	3050,55
		2HARI	62,07	4,16	8,12	3975,01
8	A22A	4 HARI	53,98	4,27	10,62	4350,46
		6 HARI	51,98	4,26	10,62	4401,82
		0 HARI	55,24	4,56	1,22	2635,83
9	A11B	2HARI	51,27	4,39	6	3194,76
		4 HARI	47,15	4,2	9,88	3774,54
		6 HARI	49,11	4,29	12	4030,32
10	K3D	0 HARI	53,52	4,76	1,12	15530,49
		2HARI	52,40	4,44	6,9	26589,43
		4 HARI	43,35	4,39	10,08	38540,22
11	K21A	6 HARI	58,03	4,39	10,97	41215,77
		0 HARI	62,30	4,39	2,75	102334,74
		2HARI	61,87	4,11	7,08	149841,54
12	K1C1	4 HARI	45,56	4,21	8,12	167339,88
		6 HARI	43,77	4,2	10,98	177791,38
		0 HARI	52,57	4,7	1,12	18222,71
13	K2C	2HARI	51,90	4,35	7,08	22553,42
		4 HARI	43,31	4,54	10	28491,86
		6 HARI	39,85	4,36	12,9	28593,25
14	K1A	0 HARI	62,13	4,77	1,12	34767,74
		2HARI	56,82	4,6	4,8	38904,91
		4 HARI	49,86	4,34	10,29	52526,61
15	S3D	6 HARI	49,19	4,45	11,34	55425,44
		0 HARI	62,14	4,74	1,18	6535,91
		2HARI	56,15	4,42	2,32	8088,77
16	K1A	4 HARI	47,06	4,42	12,07	9946,01
		6 HARI	47,40	4,49	13,02	10018,23
		0 HARI	54,58	4,8	1,24	4470,41
17	S3D	2HARI	49,77	4,56	4,96	5571,38
		4 HARI	43,93	4,43	11,8	7833,72
		6 HARI	35,59	4,49	12,81	8800,42
18	S3D	0 HARI	53,85	4,78	1,2	253737,50
		2HARI	50,40	4,54	6,96	290217,52
		4 HARI	43,18	4,46	10,62	359014,09

		6 HARI	44,56	4,46	10,62	378047,15
16	S1A	0 HARI	55,35	4,83	1,16	7668,37
		2HARI	49,86	4,59	2,85	8382,48
		4 HARI	46,31	4,39	11,8	10278,58
		6 HARI	43,85	4,46	13	10545,34
17	S2D	0 HARI	61,22	4,48	1,12	7183,46
		2HARI	56,57	4,24	2,36	9563,84
		4 HARI	48,27	4,29	8,4	10214,24
		6 HARI	48,65	4,34	9,27	11090,29
18	S1C	0 HARI	52,63	4,79	1,2	37759,40
		2HARI	47,69	4,7	2,24	44607,51
		4 HARI	43,52	4,45	10,26	59345,84
		6 HARI	44,60	4,45	10,98	62695,46

Keterangan: A isolat dari nira Aren
K isolat dari nira kelapa
N isolat dari nira Nipah
S isolat dari nira siwalan

Berdasar uji statistik dari data Tabel 3 (Lampiran 2) diperoleh isolat unggul sebanyak 12 isolat, yaitu A11E, A22A, A3B (dari Aren), K1A, K1C1, K2C, K21A (dari Kelapa), N1A, N3B, N3D, N3E (dari Nipah), dan S1A (dari Siwalan) dengan waktu fermentasi 4 dan 6 hari dengan kadar etanol berkisar 11,34% - 13,2%. Berdasar skrening dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ terlihat isolat unggul yang menghasilkan etanol tinggi lebih banyak dibandingkan skrening tanpa penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, hal tersebut diduga dengan penambahan unsur N pada media menyebabkan khamir tumbuh subur sehingga mampu mengubah gula menjadi etanol. Hal tersebut juga terlihat pada Tabel 3 yaitu pada jumlah sel terlihat seiring waktu fermentasi sampai hari ke enam terlihat jumlah selnya juga semakin bertambah hal tersebut diduga khamir dapat mengalami pertumbuhan dengan baik akibat tersedianya unsur N dalam media nira kelapa.

Berdasar hasil skrening tahap ketiga dan keempat diperoleh isolat unggul penghasil etanol tertinggi sejumlah 14 isolat, yaitu A3A, A11E, A22A, A3B (dari aren), K1A, K1C1, K2C, K21A (dari kelapa), N1A, N3B, N3D, N3E (dari nipah), S1A, S2D (dari Siwalan) dengan kadar etanol berkisar antara 11,34%-16%.

Berdasar Tabel 2 dan 3 terlihat pada hari ke 6 kadar etanol didapatkan semakin meningkat. Hal tersebut disebabkan karena pada hari ke 6 merupakan fase eksponensial yaitu mikrobia akan tumbuh dengan laju pertumbuhan yang sangat tinggi sehingga peningkatan jumlah sel terjadi secara eksponensial atau logaritmik (Yuwono, 2005). Berdasarkan Tabel 2 tersebut terlihat bahwa kadar etanol tertinggi terdapat pada Isolat K1A yaitu sebesar 16 %, fase ini masih pada fase eksponensial dikarenakan kadar etanol masih mengalami kenaikan, hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Desrosier (2008) bahwa untuk menghasilkan kadar etanol yang optimal melalui fermentasi, waktu yang dibutuhkan adalah 3-6 hari.

Berdasar Tabel 2 dan 3 setelah dilakukan proses fermentasi kondisi pH mulai menurun. Pada fermentasi hari ke 6 menunjukkan pH mengalami penurunan, hal ini sesuai dengan pendapat Azizah (2012), bahwa pertumbuhan mikroba optimal pada kondisi pH kisaran antara 3,5-6,5 sedangkan pada kondisi basa tidak akan tumbuh. Lingkungan yang terlalu asam atau basa membuat mikroorganisme sulit untuk beradaptasi. Selama fermentasi perubahan pH dapat disebabkan oleh hasil fermentasi yang merupakan asam atau basa yang dihasilkan selama pertumbuhan mikroorganisme dan komponen organik dalam medium (Keenan dkk, (1990) dalam (Rahmawati, 2010)). Kecenderungan media fermentasi semakin asam disebabkan amonia yang digunakan sel khamir sebagai sumber nitrogen diubah menjadi NH_4^+ . Molekul NH_4^+ akan menggabungkan diri ke dalam sel sebagai R-NH_3 . Dalam proses ini H^+ ditinggalkan dalam media, sehingga semakin lama waktu fermentasi semakin rendah pH media (Judoamidjojo dkk, (1989) dalam (Rahmawati, 2010)).

Berdasar Tabel 2 dan 3 terlihat semakin lama waktu fermentasi menunjukkan kadar gula reduksi yang menurun tetapi kadar etanolnya semakin meningkat, hal tersebut disebabkan karena gula tersebut diubah menjadi etanol oleh khamir. Berdasar jumlah sel terlihat semakin lama waktu fermentasi jumlah sel semakin meningkat, hal tersebut menunjukkan bahwa sel khamir dapat tumbuh dengan baik pada kondisi pH berkisar 4 (asam). Pada Tabel 3 terlihat jumlah sel

juga semakin meningkat dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ terlihat khamir dapat mengalami pertumbuhan dengan baik akibat tersedianya unsur N dalam media nira kelapa.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat dirumuskan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan terdapat khamir indigenous yang dapat memproduksi etanol.
2. Berdasarkan skrening yang telah dilakukan diperoleh isolat yang unggul untuk produksi etanol sejumlah 14 isolat, yaitu A3A, A11E, A22A, A3B (dari aren), K1A, K1C1, K2C, K21A (dari kelapa), N1A, N3B, N3D, N3E (dari nipah), S1A, S2D (dari Siwalan) dengan kadar etanol berkisar antara 11,34%-16%. dengan waktu fermentasi terbaik 6 hari.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan berdasar hasil penelitian yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis khamir indigenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang selanjutnya dapat diketahui hubungan kekerabatan dari isolat-isolat tersebut untuk selanjutnya digunakan dalam produksi etanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyani, Chairul, Muria. 2015. Pembuatan Bioetanol dengan Proses Fermentasi Nira Aren Menggunakan *Saccharomyces cereviceae* dengan Variasi pH Awal dan Waktu Fermentasi. *JOM FTEKNIK* 2 (1).
- Atmojo. 2010. *Bioetanol Bahan Bakar Nabati*. <http://theatmojo.com/energi/bioetanol-bahan-bakar-nabati>.
- Azizah. N, Dkk. 2012. “Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, Dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substansi Kulit Nanas”. Semarang: UNDIP. *Jurnal Penelitian Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. 1, No. 2, 2012: 72-73
- Blanco, J.M. M. Avalos and I. Orriols. 2012. Effect of must characteristics on the diversity of *Saccharomyces* strains and their prevalence in spontaneous fermentations. *Journal of Applied Microbiology* 112 (1): 936–944
- Borines, Rizalinda L. de Leon b, Joel L. Cuello. 2013. Bioethanol production from the macroalgae *Sargassum* spp. *Bioresource Technology* 138 (1): 22–29
- Börjesson, P. & Tufvesson, L.M. 2011. Agricultural crop-based biofuels – resource efficiency and environmental performance including direct land use changes. *Journal of Cleaner Production*. 19 (1): 108–120.
- Bringezu, S., Ramesohl, S., Arnold, K., Fishedick, M., von Geibler, J., Liedtkeand, C. & Schütz, H. 2007.. Towards a sustainable biomass strategy. What we know and what we should know. *Wuppertal Institute for Climate, Environment and Energy*. 163 (1): 128-130.
- Cassman, K.G. & Liska, A.J. 2007. Food and fuel for all: Realistic or foolish? *Biofuels, Bioproducts, and Biorefining*. 1 (1): 18–23.
- Chairul dan S.R. Yenti. 2013. Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan *Sacharomyces cereviceae*. *Jurnal Teknobiologi*, IV(2): 105 – 108.
- Chinn, M.S., E.E. Nokes, and H.J. Strobel. 2006. Screening of thermophilic anaerobic bacteria for solid substrate cultivation on lignocellulosic substrates. *Biotechnol. Prog.* 22 (1): 53–59.
- David, 2007. Peneliti Pada Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian (Disajikan dalam Workshop Budidaya dan Pemanfaatan Aren untuk Bahan Pangan dan Energi 6 Desember 2007)
- Dahlan., Muhammad H., Sari., Dewi D, Ismadyar. 2009. Pemekatan Nira Nipah Menggunakan Membran Selulosa Asetat. *Jurnal Teknik Kimia Universitas Sriwijaya* : Palembang.
- Dien, B.S., M.A. Cotta, and T.W. Jeffries. 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (1): 258–266.
- Demain, A.L., M. Newcomb, and J.H.D. Wu. 2005. Cellulase, clostridia, and ethanol. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 69(1): 124–154.
- Desai, S.G., M.L. Guerinot, and L.R. Lynd. 2004. Cloning of L-lactate dehydrogenase and elimination of lactic acid production via gene knockout in

- Thermoanaerobacterium saccharolyticum* JW/SL-YS485. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65 (1): 600–605
- Desrosier, Norman W, 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Dyanti, 2002. Studi Komparatif Gula Merah Kelapa dan Gula Merah Aren. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, *Institut Pertanian Bogor, Bogor*. 2 (1): 26-40
- Goldemberg, J. 2006. The promise of clean energy. *Energy Policy*. 34 (1): 2185–2190.
- Hadi, Thamrin., Moersidik, S.S., Bahry, S. 2013. Karakteristik dan Potensi Bioetanol dari Nira Nipah (*Nypa fruticans*) untuk Penerapan Skala Teknologi Tepat Guna. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 2 (1): 291-293.
- Hepworth, M., 2005, Technical, Environmental and Economic Aspects of Unit Operation for The production of Bioethanol From Sugar Beet in the United Kingdom, CET IIA *Exercise 5* (1), Corpus Christi College.
- Hidayat. N. 2006. **Mikrobiologi Industri**. Edisi Pertama. Yogyakarta
- Ingram, L.O., P.F. Gomez, X. Lai, M. Moniruzzaman, B.E. Wood, L.P. Yomano, and S.W. York. 1999. Metabolic engineering of bacteria for ethanol production. *Biotechnol. Bioeng.* 58 (1): 204–214.
- John, G.S. Anisha, K. Madhavan Nampoothiri, Ashok Pandey. 2011. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology* 102 (1): 186–193
- Kusumanto. 2010. Mencari Cara Pengawetan Alami Nira Aren Untuk Produksi Gula Organik. <http://kebunaren.blogspot.co.id/2010/02/mencari-cara-pengawetan-alami-nira-aren.html>
- Landry, C.R., Townsend, J.P., Hartl, D.L. and Cavalieri, D. 2006. Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Ecology*. 15 (1): 575–591.
- Naik, S.N., Goud, V.V., Rout, P.K. & Dalai, A.K. 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14 (1): 578–597.
- Naknean & Keawta Jutasukosol & Theerarat Mankit, 2015. Utilization of chitosan as an antimicrobial agent for pasteurized palm sap (*Borassus flabellifer* Linn.) during storage. *J Food Sci Technol* 52(2):731–741 DOI 10.1007/s13197-013-1104-x
- Nie, Y., Xu, Y., Mu, X. Q., Wang, H. Y., Yang, M., & Xiao, R. 2007. Purification, Characterization, Gene Cloning, and Expression of a Novel Alcohol Dehydrogenase with Anti-Prelog Stereospecificity from *Candida parapsilosis*. *Applied and Environmental Microbiology* 20 (1): 3759-3764.
- Nikon. 2004. *Saccharomyces Yeast Cell: Nikon Microscopy*. Phase Contrast Image Gallery. <http://www.microscopyu.com/galleries/phasecontrast/saccharomyces-small.html>
- Pandey, A. Soccol, C.R. Nigam, P. And Soccol, V.T. 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues. Sugarcane bagasse. *Bioresource Technol.* 74 (1): 69-80

- Prescott, A.M., and J.P. Harley. 2002. **Microbiology**. McGraw-Hill, New York.
- Rahmawati, A. 2010. "Pemanfaatan Limbah Kulit Ubi Kayu (*Manihot utilissima* Pohl.) dan Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.) Pada Produksi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger*". *Skripsi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNS*
- Riyanti, E.I. 2011. Beberapa Gen Pada Bakteri yang Bertanggung Jawab Terhadap Produksi Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 30(2): 23-25.
- Riyanti, E.I. and P.L. Rogers. 2009. Kinetic evaluation of bioethanol-tolerant thermophile *Geobacillus thermoglucosidasius* M10EXG for ethanol production. *Indones. J. Agric. Sci.* 10(1): 34-41.
- Samsuri, M. M. Gozani, R. Mardias, M. Baiquni, H. Hermansyah, A. Wijanarko, B. Prasetya, dan M. Nasikin. 2007 "Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan Steaming pada Produksi Ethanol dari *Bagas* melalui proses Sakarifikasi dan Fermentasi secara Serentak (SSF)." *Makara, Teknologi*, 11(1): 17-24
- Saputra, Ali Ridlo, I. Widowati. 2012. Kajian Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J. G. Agardh sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Journal Of Marine Research*. 1 (2): 145-151
- Sebayang. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase secara Fermentasi menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses* 5 (2):75-80.
- Shafiee, S. & Topal, E. 2009. When will fossil fuel reserves be diminished *Energy Policy*. 37 (1): 181-189.
- Simmons, B.A., Loque, D. & Blanch, H.W. 2008. Next-generation biomass feedstocks for biofuel production. *Genome Biology*. 9 (1): 242-245.
- Stephanopoulos, G. 2007. Challenges in engineering microbes for biofuels production. *Science* 315 (1): 801-804.
- Tamunaidu, P. and Saka, S. 2011. *Chemical characterization of various parts of nipa palm (Nypa fruticans)*. Department of Socio-Environmental Energy Science, Graduate School of Energy Science, Kyoto University, Yoshida-honmachi, Sakyo-ku 606-8501, Kyoto, Japan. (KURENAI : Kyoto University Research Information Repository)
- Tamunaidu, P. and Saka, S. 2013. Comparative Study of Nutrient Supplements and Natural Inorganic Components in Ethanolic Fermentation of *Nipa Sap*. *Journal of the Japan Institute of Energy*. 92 (1): 181 - 186.
- Vries, S.C.d., Ven, G.W.J.v.d., Ittersum, M.K.V. & Giller, K.E. 2010. Resource use efficiency and environmental performance of nine major biofuel crops, processed by firstgeneration conversion techniques. *Biomass and Bioenergy*. 34 (1):588 – 601.
- Wardani dan F. N. E. Pertiwi. 2013. Produksi Etanol Dari Tetes Tebu Oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk Flok (Nr11 – Y 265). *Agritech*, 33(2): 131-139
- Wijaya dan I G. K. A. Arthawan. 2012. Potensi Nira Kelapa Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Bumi Lestari*, 12(1): 85 – 92.
- Yuwono, Triwibowo, 2006. *Fisiologi Mikrobia*. Yogyakarta : Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

- Zaldivar, J., J. Nielsen, and L. Olsson. 2001. Fuel ethanol production from lignocellulose: A challenge for metabolic engineering and process integration. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 17–34.
- Zhang, M., C. Eddy, K. Deanda, M. Finkelstein, and S. Picataggio. 1995. Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic *Zymomonas mobilis*. *Science* 267: 240–243.

Lampiran 1. Uji Statistik Hasil skrining Tahap 3

A. Hasil Uji Asumsi

1. Uji Normalitas Data

Hasil uji normalitas datas kadar etanol disajikan pada Tabel 1.1.

Tabel 1.1 Uji Normalitas Data Kadar etanol

		Residual for Etanol
N		216
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000
	Std. Deviation	,02723
Most Extreme Differences	Absolute	,204
	Positive	,204
	Negative	-,172
Test Statistic		,204
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Hasil uji normalitas data kadar etanol sesuai Tabel 1.1 memiliki *p-value* sebesar $0,000 < \alpha$ ($\alpha = 0,05$). Dengan demikian, dapat disimpulkan data kadar etanol terdistribusi normal.

2. Uji Homogenitas Data

Uji homogenitas data dilakukan pada pretets dan kadar etanol disajikan pada Tabel 1.2.

Tabel 1.3 Rangkuman Uji Homogenitas Kadar etanol

Variabel	F	df1	df2	Sig.
kadar etanol	2,988	71	144	,000

Hasil uji homogenitas data kadar etanol sesuai Tabel 1.1 memiliki *p-value* sebesar $0,000 < \alpha$ ($\alpha = 0,05$). Dengan demikian, dapat disimpulkan data kadar etanol homogen.

B. Pengujian Hipotesis

Rangkuman hasil uji anakova pengaruh jenis isolat dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol siswa ditunjukkan pada Tabel 1.3.

Tabel 1.3 Hasil Uji Anova Pengaruh Jenis Isolat dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar etanol

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2896,091 ^a	71	40,790	36849,196	,000
Intercept	16600,034	1	16600,034	14996266,604	,000
Isolat	191,355	17	11,256	10168,685	,000
Fermentasi	2402,285	3	800,762	723398,137	,000
Isolat * Fermentasi	302,451	51	5,930	5357,468	,000
Error	,159	144	,001		
Total	19496,284	216			
Corrected Total	2896,250	215			

a. R Squared = 1,000 (Adjusted R Squared = 1,000)

Berdasarkan hasil uji anava pada Tabel 1.3, dapat diketahui

1. F hitung perlakuan perbedaan jenis isolat adalah sebesar 10168,685 dengan $p\text{-value} = 0,000$. $p\text{-value} < \alpha$ ($\alpha=0,05$). Artinya, ada pengaruh jenis isolat terhadap kadar etanol yang dihasilkan.
2. F hitung pada perlakuan perbedaan waktu fermentasi adalah sebesar 723398,137 dengan $p\text{-value} = 0,000$ $p\text{-value} < \alpha$ ($\alpha=0,05$). Artinya, ada pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol yang dihasilkan.
3. F hitung perlakuan perbedaan interaksi penerapan jenis isolat dan waktu fermentasi adalah sebesar 5357,468 dengan dengan $p\text{-value} = 0,000$. $p\text{-value} < \alpha$ ($\alpha=0,05$). Artinya, ada pengaruh kombinasi jenis isolat dan waktu fermentasi terhadap pencapaian kadar etanol.

a. Pengaruh Penerapan Jenis isolat terhadap Kadar etanol

Tabel 1.4 berikut menyajikan hasil uji Duncan untuk pengaruh jenis isolat. Berdasarkan Tabel 1.4 tersebut, dapat diketahui bahwa jenis isolat A22A menghasilkan kadar etanol yang secara signifikan lebih rendah dari isolat jenis lainnya. Di sisi lain, isolat K2C menghasilkan kadar etanol yang secara signifikan lebih tinggi dari jenis isolat lainnya.

Tabel 1.4 Hasil Uji Duncan Pengaruh Jenis isolat terhadap Kadar etanol

Isolat	Notasi
A22A	a
A11B	b
S1C	c
A11E	d
K1C1	e
N3B	f
S3D	g
N3D	h
N1A	i
S2D	j
A3B	k
S1A	l
A3A	m
N3E	n
K3D	n
K1A	o
K21A	p
K2C	q

b. Pengaruh Waktu fermentasi terhadap Kadar etanol

Tabel 1.5 berikut menyajikan hasil uji Duncan untuk pengaruh waktu fermentasi. Berdasarkan Tabel 1.5 tersebut, dapat diketahui bahwa waktu fermentasi 0 hari menghasilkan kadar etanol yang secara signifikan lebih rendah dari waktu fermentasi lainnya. Di sisi lain, waktu fermentasi selama 6 hari menghasilkan kadar etanol yang secara signifikan lebih banyak daripada waktu fermentasi lainnya.

Tabel 1.5 Hasil Uji Duncan Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar etanol

Fermentasi	Notasi
0 hari	a
2 hari	b
4 hari	c
6 hari	d

c. Perbedaan Interaksi jenis isolat dan waktu fermentasi terhadap Kadar etanol

Hasil uji Duncan pengaruh perbedaan perlakuan kombinasi terhadap kadar etanol dipaparkan pada Tabel 1.6 berikut. Berdasarkan Tabel 1.6, dapat diketahui bahwa perlakuan kombinasi penggunaan isolat K1A dengan waktu fermentasi selama 0 hari menghasilkan kadar etanol yang secara signifikan lebih rendah dari perlakuan kombinasi lainnya. Di sisi lain, perlakuan kombinasi penggunaan jenis isolat K1A dengan waktu fermentasi selama 6 hari menghasilkan kadar etanol yang secara signifikan lebih banyak dari perlakuan kombinasi lainnya.

Tabel 1.6 Rangkuman Hasil Uji Duncan Perlakuan Kombinasi

Interaksi	Notasi
K1A 0 hari	a
A22A 0 hari	b
N1A 0 hari	c
S3D 0 hari	c
K3D 0 hari	d
K1C1 0 hari	d
N3B 0 hari	e
A22A 2 hari	f
K1C1 2 hari	g
N3D 0 hari	h
N3E 0 hari	h
K21A 0 hari	h
K2C 0 hari	h
A3B 0 hari	i
A3A 0 hari	i
A11B 0 hari	i
A11B 2 hari	j
S1A 0 hari	j
S1C 0 hari	j
S1A 2 hari	k
S1C 2 hari	k
S2D 0 hari	l
S2D 2 hari	l
A11E 0 hari	m
A11E 2 hari	n
A3A 2 hari	n
N3D 2 hari	o
N1A 2 hari	P
N3B 2 hari	q
K1A 2 hari	r
N3E 2 hari	s
A22A 4 hari	t
K3D 2 hari	t
S3D 2 hari	t
A3B 2 hari	u
A22A 6 hari	v
A3B 4 hari	w
A11E 4 hari	x
S1C 4 hari	x
K2C 2 hari	x

A11E 6 hari
S2D 4 hari
K21A 2 hari
A11B 4 hari
A11B 6 hari
S1C 6 hari
S3D 4 hari
N3B 4 hari
S1A 4 hari
N3E 4 hari
K3D 4 hari
S3D 6 hari
N3D 4 hari
N3D 6 hari
A3A 4 hari
N3B 6 hari
N1A 4 hari
K1C1 4 hari
N1A 6 hari
A3B 6 hari
K1A 4 hari
K3D 6 hari
K21A 4 hari
K21A 6 hari
K1C1 6 hari
N3E 6 hari
S2D 6 hari
A3A 6 hari
K2C 4 hari
K2C 6 hari
S1A 6 hari
K1A 6 hari

y

z

a'

b'

b'

b'

Lampiran 2. Uji Statistik skrening tahap keempat dengan penambahan (NH₄)H₂ PO₄

A. Hasil Uji Asumsi

1. Uji Normalitas Data

Hasil uji normalitas datas kadar etanol disajikan pada Tabel 1.1.

Tabel 1.1 Uji Normalitas Data Kadar etanol

		Residual for Etanol
N		216
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000
	Std. Deviation	6,17600
Most Extreme Differences	Absolute	,463
	Positive	,463
	Negative	-,454
Test Statistic		,463
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Hasil uji normalitas data kadar etanol sesuai Tabel 1.1 memiliki *p-value* sebesar $0,000 < \alpha$ ($\alpha = 0,05$). Dengan demikian, dapat disimpulkan data kadar etanol terdistribusi normal.

2. Uji Homogenitas Data

Uji homogenitas data dilakukan pada pretets dan kadar etanol disajikan pada Tabel 1.2.

Tabel 1.3 Rangkuman Uji Homogenitas Kadar etanol

Variabel	F	df1	df2	Sig.
kadar etanol	15,944	71	144	,000

Hasil uji homogenitas data kadar etanol sesuai Tabel 1.1 memiliki *p-value* sebesar $0,000 < \alpha$ ($\alpha = 0,05$). Dengan demikian, dapat disimpulkan data kadar etanol tidak homogen.

B. Pengujian Hipotesis

Rangkuman hasil uji anakova pengaruh jenis isolat dan waktu fermentasi terhadap kadar etanol siswa ditunjukkan pada Tabel 1.3.

Tabel 1.3 Hasil Uji Anova Pengaruh Jenis Isolat dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar etanol

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6777,757 ^a	71	95,461	1,676	,005
Intercept	12281,755	1	12281,755	215,660	,000
Isolat	690,450	17	40,615	,713	,786
Fermentasi	2501,908	3	833,969	14,644	,000
Isolat * Fermentasi	3585,400	51	70,302	1,234	,168
Error	8200,748	144	56,950		
Total	27260,261	216			
Corrected Total	14978,506	215			

a. R Squared = ,452 (Adjusted R Squared = ,183)

Berdasarkan hasil uji anava pada Tabel 1.3, dapat diketahui

1. F hitung perlakuan perbedaan jenis isolat adalah sebesar 0,713 dengan *p-value* = 0,786. *p-value* > α ($\alpha=0,05$). Artinya, tidak ada pengaruh jenis isolat terhadap kadar etanol yang dihasilkan.
2. F hitung pada perlakuan perbedaan waktu fermentasi adalah sebesar 14,644 dengan *p-value* = 0,000 *p-value* < α ($\alpha=0,05$). Artinya, ada pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar etanol yang dihasilkan.
3. F hitung perlakuan perbedaan interaksi penerapan jenis isolat dan waktu fermentasi adalah sebesar 1,234 dengan dengan *p-value* = 0,168 *p-value* > α ($\alpha=0,05$). Artinya, tidak ada pengaruh kombinasi jenis isolat dan waktu fermentasi terhadap pencapaian kadar etanol siswa.

d. Pengaruh Waktu fermentasi terhadap Kadar etanol

Tabel 1.4 berikut menyajikan hasil uji Duncan untuk pengaruh waktu fermentasi. Berdasarkan Tabel 1.4 tersebut, dapat diketahui bahwa waktu

fermentasi 0 hari dan 2 hari menghasilkan kadar etanol yang secara signifikan lebih rendah dari waktu fermentasi 4 hari dan 6 hari.

Tabel 1.4 Hasil Uji Duncan Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar etanol

Fermentasi	Notasi
0 hari	a
2 hari	a
4 hari	b
6 hari	b

Lampiran 3. Foto-foto penelitian



Gambar 1. Sampling Nira Nipah di Cilacap



Gambar 2. Hasil Sampling Nira



Gambar 3. Skrening isolat tahap 3, nira dengan perlakuan waktu fermentasi



Gambar 4. Skrening isolat tahap 4, nira dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$

Lampiran 4. Biodata Ketua dan anggota

4.1 Biodata Ketua

A. Identitas Diri

1	Nama lengkap	Trianik Widyaningrum,M.Si
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Dosen Pendidikan Biologi UAD
4	NIY	60970160
5	NIDN	0514017001
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Semarang, 14 Januari 1970
7	E-mail	trianikwidyaningrum@ymail.com
8	Nomor Telpon/HP	0816682123
9	Alamat kantor	UAD Kampus 3. Jl.Prof.Dr.Soepomo Janturan Yogyakarta
10	Nomor telepon/Faks	(0274) 563515/ (0274) 564604
11	Lulusan yang Telah dihasilkan	S1 = 310 orang S2 = 0 S3 = 0
12	Mata kuliah yang Diampu	1. Biologi Dasar 2. Genetika 3. Evolusi 4. Dasar-dasar Bioteknologi

B.Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	UGM	UGM	
Bidang Ilmu	Biologi	Biologi	
Tahun Masuk-Lulus	1988-1994	1998-2001	
Judul skripsi/thesis/disertasi	Stratigrafi Pollen dan Spora di Telaga Sumurup Dieng	Ribosom Inactivating Protein (RIPs) <i>Curcuma mangga</i> yang Tumbuh pada Ketinggian yang Berbeda	
Nama Pembimbing/Promotor	Dr.Agus Pudjoarinto,SU	Dr.Hari Hartiko,SU	

C. Pengalaman Penelitian dalam 3 Tahun terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta)
1	2013	Peningkatan Keaktifan dan Prestasi Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UAD Melalui Model Belajar Kelompok dan Media Pembelajaran Imitasi Persilangan Pada Mata Kuliah Genetika	Dikti	5,7
2	2013	Peningkatan Bioetanol Sargassum Dengan Penambahan Kultur Murni	UAD	5

		<i>Saccharomyces Cereviciae</i>		
3	2014	Kadar Bioetanol Fermentasi Kulit Jagung Menggunakan Ragi (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Dikti	9
4	2014	Pengembangan Media Pembelajaran Biologi SMA Berbasis Kontekstual Pada Rumpun Bioteknologi Melalui Penerapan Hasil Penelitian Kadar Bioetanol Fermentasi Kulit Jagung Menggunakan Ragi (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) Di SMA Muhammadiyah 3 Yogyakarta	Dikti	13
5	2015	Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase	Dikti	60
6	2016	Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase (tahun ke 2)	Dikti	50
7	2017	Identifikasi Gen <i>Pdc</i> Dan <i>Adh</i> Dari <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, Dan Siwalan Untuk Produksi Etanol	Dikti	52,5

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 3 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta)
5	2013	Tot Pelatihan Motivasi Belajar Siswa Dan Pelatihan Pengembangan Pembelajaran Aktif Bagi Guru Di SMP Negeri 3 Pajangan Dan SMP Negeri 2 Kasihan Bantul	DP2M	45
6	2013	KKN PPM Pemberdayaan Masyarakat Dalam Pembuatan Pakan Ternak Silase Dengan Bahan Dasar Jerami Guna Mensiasati Paceklik Pangan	DP2M	70
7	2014	TOT Pelatihan Motivasi Belajar Siswa Dan Pelatihan Pengembangan Pembelajaran Aktif Bagi Guru Di SMP Muhammadiyah 1 dan SMP Muhammadiyah 2 Gamping	DP2M	44,5
8	2014	Pemberdayaan Masyarakat dalam Pembuatan Pupuk Organik guna Mensiasati Kerusakan Tanah di Desa Sidomulyo Kecamatan Bambanglipuro Kabupaten Bantul	DP2M	80

8	2015	Pemberdayaan Masyarakat Dalam Pembuatan Briket Guna Mensiasati Penumpukan Limbah Organik Di Desa Argodadi, Sedayu, Bantul	DP2M	75
9	2015	Peningkatan Produksi Bibit Jamur F3 di Bantul	DP2M	44.5

E. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 3 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/ Tahun
1	Pengaruh Ekstrak Air Bayam Terhadap Kadar Hb dan Tekanan darah Mencit	Bio Edukatika	Vol I No. 1 Juli 2013
2	Uji Patogenitas Spora Jamur <i>Metarhizium anisopliae</i> terhadap Mortalitas Hama <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari) Sebagai Bahan Ajar Biologi SMA Kelas X	Jupemasi- Pbio	Vol 1. No.1 Tahun 2014
3	Uji Patogenitas Spora Jamur <i>Metarhizium anisopliae</i> terhadap Mortalitas Larva <i>Oryctes Rhinoceros</i> Sebagai Bahan Ajar Biologi SMA Kelas X	Jupemasi- Pbio	Vol 1. No.1 Tahun 2014
4	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Patikan Kebo (<i>Euphorbia hirta</i> L) Terhadap <i>Salmonella thypi</i>	Jurnal Nasional Bio Wallacea Program Studi Biologi, Fakultas FMIPA, Universitas Mataram	Vol.2 No. 1 Januari 2016 ISSN: 2442-2622
5.	Production of Bioethanol from The Hydrolysate of Brown Seaweed (<i>Sargassum crassifolium</i>) using a Naturally β Glucosidase Producing Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JCM 3012	International Journal Bioscience Biotechnology Research Asia	Vol. 13 (3), 1333-1340 September 2016

F. Pemakalah Seminar Ilmiah (Oral Presentation) dalam 3 Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1.	International Conference on Green Word in	Test Antibacterial Activity of Ethanol Extract Racunan Flower (<i>Euphorbia Wild</i>) Against Bacteria <i>Escherichia coli</i>	23 Maret 2013

	Business and Technology.	<i>and Staphylococcus aureus</i> and Profile With Thin Layer Chromatography	
2	Enhancing International Collaborative Research on Educational, Science, and Humanities	Antibacterial Activity Ethanol Extract of <i>Euphorbia pulcherrima</i> Wild Leaf's Against <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> With Thin Layer Chromatography Profil	19-21 June 2013
3	Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Biologi di UNY	Pengaruh Komposisi Campuran Tepung Jeroan Ikan Patin (<i>Pangasius Pangasius</i>) Dan Pellet Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Protein Ikan Nila (<i>Oreochromis Niloticus</i>)	Oktober 2013
4	International Conference on Green Word in Business and Technology.	Effect Of Ethanol Extract Flower <i>Chrysanthemum Cinerariaefolium</i> Trev) On Mortality Mosquito Larvae Of <i>Aedes Albopictus</i> (Skuse)	29 Maret 2014
5	Seminar nasional di UMM	Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Sidaguri (<i>Sida Rhombifolia</i>) Terhadap <i>Candida Albicans</i>	21 Maret 2015
6	Seminar Nasional ALFA ke IV di UNY	Peningkatan Keaktifan dan Prestasi Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UAD Melalui Model Belajar Problem Based Learning Pada Mata Kuliah Metodologi Penelitian	9 Mei 2015
7	Seminar Nasional Wallacea di Universitas Mataram Lombok	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Patikan Kebo (<i>Euphorbia Hirta</i> L.) Terhadap <i>Salmonella Thypi</i>	19 Agustus 2015
8	Seminar Nasional II di Malang"	Peningkatan Bioetanol Sargassum Melalui Penambahan Enzim Sellulase	26 Maret 2016 di UMM
9	Seminar Nasional ALFA ke V di JEC	Peningkatan Keaktifan Dan Prestasi Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UAD Melalui Model Pembelajaran Jigsaw Pada Mata Kuliah Biologi Dasar	29 Juni 2016 di UAD
10	Semnas Profunedu di Medan	Peningkatan Keaktifan Dan Prestasi Belajar Mahasiswa Pendidikan Biologi UAD Melalui Model Belajar Problem Based Learning Pada Mata Kuliah Metodologi Penelitian	3 Agustus 2016 di Medan

11	Symbion UAD	Pengaruh Konsentrasi Nira Kelapa (<i>Cocos Nucifera. L</i>) Terhadap Kualitas Yoghurt Jagung (<i>Zea Mays</i>)	27 Agustus 2016
12	Seminar Nasional ALFA ke VI di Unwidha Klaten	Analisis Miskonsepsi Buku Ajar Biologi Kelas Xi Sma/Ma Pada Materi Sel	5 Oktober 2016 di Unwidha Klaten

G. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Modul TOT Motivasi Berprestasi	2013	100	deepublish
2	Modul TOT Pembelajaran aktif	2013	112	deepublish
3	Modul TOT Pembelajaran Aktif (<i>Active Learning</i>)	2014	130	deepublish
Dst.				

H. Perolehan HKI dalam 5–10 Tahun Terakhir

No.	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1	Modul TOT Motivasi Berprestasi	2013	Buku ISBN	C22201400025
2	Modul TOT Pembelajaran aktif	2013	Buku ISBN	C22201400024
3	Modul TOT Pembelajaran Aktif (<i>Active Learning</i>)	2014	Buku ISBN	C22201600888

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima risikonya. Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Produk Terapan

Yogyakarta, 11 Agustus 2016
Penyusun



Trianik Widyaningrum, M.Si

4.2 Biodata Anggota

A. Identitas Diri	
Nama Lengkap (denganelar)	Dra. Listiatie Budi Utami, M.Sc
Jenis Kelamin	Perempuan
Jabatan Fungsional	Lektor Kepala
NIP	196009181989022001
NIDN	0018096902
Tempat dan Tanggal Lahir	Yogyakarta, 18 September
Email	listiatie_uad@yahoo.com
Nomor Telepon/Faks/ HP	08122752133
Alamat Kantor	Universitas Ahmad dahlan, Jl Kapas , no 19
Nomor Telepon/Faks	0274 563515

B. Riwayat pendidikan

	S1	S2	S3
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Gadjah Mada	Ball State University, IN	
Bidang Ilmu	Botany	Botany	
Tahun Masuk-Lulus	1980-1987	1993-1995	
Judul Skripsi/Thesis/Disertasi	Pertumbuhan Jamur Merang pada Media Jerami dengan Perendaman Limbah PG Madukismo	Fungicide used to control <i>Septoria ampelina</i> Fungi on <i>Vitis labrusca</i>	
Nama Pembimbing/Promotor	Dra. Nanik Jalal Tanjung, MSc	Prof. Donald Ruch, Ph.D	

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian
1	2016	Uji Patogenisitas Cendawan <i>Metarhiziuman isopliae</i> yang Ditumbuhkan pada Media Beras Putih, Beras Merah dan Ketan Putih terhadap Mortalitas Larva Kumbang Badak (<i>Oryctes rhinoceros</i> L.)
2	2015	Uji Anti Fungi Pada Jamur Pelapuk Kayu Menggunakan Ekstrak Biji Mahkota Dewa
3	2014	Pembuatan Pewarana Alami Batik Kayu Dari Daun Suji (<i>Pleomaleangusti folia</i>) , Kulit Alar Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) dan Rimpang Kunyit (<i>Curcuma domestica</i> Val).

4	2013	Pembuatan Pewarana Alami Batik Kayu Dari Daun Suji (<i>Pleomeangusti folia</i>), Kulit Alar Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) dan Rimpang Kunyit (<i>Curcuma domestica</i> Val).
5	2013	Pertumbuhan Tanaman Bunga Matahari (<i>Helianthus annuus</i> L.) Pada Media Tanam Dengan Penambahan Kompos Enceng Gondok Dan Pupuk Cair Keong Mas
6	2011	Pertumbuhan dan Produksi Bunga Rosella pada Media Dengan Penambahan Kulit Telur Ayam

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta)
1	2015	Pelatihan Pembuatan Kompos berbasis limbah Pertanian di Gunung Kidul		75
2	2014	Pemberdayaan Masyarakat desa Sidomulyo Bantul untuk mensiasati kerusakan tanah menggunakan pupuk organik	DIKTI	80
3	2013	Pengolahan limbah rumah tangga sebagai bahan pupuk tanaman sayur	FMIPA	0,5
4	2012	Pembuatan kimci sebagai sumber nutrisi	LPM UAD	0,5
5	2011	Pemanfaatan sampah Organik	Aisyiyah DIY	0.5

E. Pengalaman Penulisan Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Fisiologi Tumbuhan I	2010	104	
2	Fisiologi Tumbuhan II	2009	142	-
3	Biologi Umum	2008	120	-
4	Ekofisiologi Tumbuhan	2007	85	

F. Pengalaman Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan / Seminar Ilmiah Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan Ilmiah	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan tempat
1	Seminar Nasional	Pengaruh Pemberian Pupuk Organik Pada Media Tanah yang Mengandung Timbal (Pb) Terhadap Pertumbuhan Kangkung Darat (<i>Ipomoea Reptans</i> Poir.)	2016 Denpasar

2	Seminar internstionsl UAD	The Natural Dyes of Wooden Batik from Suji Leaves (<i>Pleomeangustifolia</i>), Root barks of Noni (<i>Morindacitrifolia</i>) and Turmeric rhizome (<i>Curcuma domestica</i>)	2015
3	ICGWBT	Phytochemicals Identification Of Mahkota Dewa (<i>Phaleria Macrocarpa</i> [Scheff.] Boerl) Seed Extraction	2014
4	International Conference of Green Economy	The Study Of Green Open Space Design At Rusunawa Of Ahmad Dahlan University Complex	2013 UAD
5	Seminar International Green World for Bussiness and Technology	Growth and Production Of Rosella Flowers On Chicken Eggs Shell Added Growing Media	Maret, 2012 UAD

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima risikonya. Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Produk Terapan.

Yogyakarta 24 April 2016

Dra. Listiatie Budi Utami, M.Sc



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

Jalan Gondosuli No. 1 Yogyakarta
Telepon/Faks. 0274-542886, e-mail: lpp@uad.ac.id
Website: www.lpp.uad.ac.id

KONTRAK PENELITIAN PENELITIAN PRODUK TERAPAN (PPT) TAHUN ANGGARAN 2017 Nomor: PPT-080/SP3/LPP-UAD/IV/2017

Pada hari ini **Senin** tanggal **Tujuh Belas** bulan **April** tahun **Dua Ribu Tujuh Belas**, kami yang bertandatangan di bawah ini :

1. **Dr. Widodo, M.Si.** : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD) dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Universitas Ahmad Dahlan, yang berkedudukan di Jalan Gondosuli no. 1 Yogyakarta, untuk selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**;
2. **TRIANIK WIDYANINGRUM S.Si, M.Si.** : Dosen Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Ahmad Dahlan, dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Tahun Anggaran 2017 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA**, secara bersama-sama sepakat mengikatkan diri dalam suatu Kontrak **PENELITIAN PRODUK TERAPAN (PPT)** Tahun Anggaran 2017 dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagai berikut.

Pasal 1 Ruang Lingkup Kontrak

PIHAK PERTAMA memberi pekerjaan kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima pekerjaan tersebut dari **PIHAK PERTAMA**, untuk melaksanakan dan menyelesaikan **PENELITIAN PRODUK TERAPAN (PPT)** Tahun Anggaran 2017 dengan judul **"IDENTIFIKASI GEN *pdv* dan *adh* DARI *Saccharomyces cerevisiae* INDIGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH, DAN SIWALAN UNTUK PRODUKSI ETANOL"**

Pasal 2 Dana Penelitian

- (1) Besarnya dana untuk melaksanakan penelitian dengan judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 adalah sebesar Rp **52,500,000.00 (Lima puluh dua juta lima ratus ribu rupiah)** sudah termasuk pajak.
- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Nomor SP DIPA-042.06.1.401516/2017, tanggal 06 Desember 2016.

Pasal 3
Tata Cara Pembayaran Dana Penelitian

- (1) **PIHAK PERTAMA** akan membayarkan Dana Penelitian kepada **PIHAK KEDUA** secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
 - a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total dana penelitian yaitu **70% x Rp 52,500,000.00 = Rp 36,750,000.00 (Tiga puluh enam juta tujuh ratus lima puluh ribu rupiah)**, yang akan dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PARA PIHAK** membuat dan melengkapi rancangan pelaksanaan penelitian yang memuat judul penelitian, pendekatan dan metode penelitian yang digunakan, data yang akan diperoleh, anggaran yang akan digunakan, dan tujuan penelitian berupa luaran yang akan dicapai.
 - b. Pembayaran Tahap Kedua sebesar 30% dari total dana penelitian yaitu **30% x Rp 52,500,000.00 = Rp 15,750,000.00 (Lima belas juta tujuh ratus lima puluh ribu rupiah)**, dibayarkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** setelah **PIHAK KEDUA** mengunggah ke SIMLITABMAS yaitu: (i) Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian, (ii) Laporan Penggunaan Keuangan 70%, dan (iii) Catatan Harian paling **selambat-lambatnya 15 September 2017**; serta menyerahkan *hardcopy* berkas-berkas tersebut kepada **PIHAK PERTAMA**.
 - c. Biaya tambahan dibayarkan kepada **PIHAK KEDUA** bersamaan dengan pembayaran Tahap Kedua dengan melampirkan Daftar Luaran penelitian yang sudah divalidasi oleh **PIHAK PERTAMA**.
- (2) Dana Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) akan disalurkan oleh **PIHAK PERTAMA** kepada **PIHAK KEDUA** ke rekening sebagai berikut:

Nama : TRIANIK WIDYANINGRUM S.Si, M.Si.
Nomor Rekening : 801.211.007442
Nama Bank : BPD DIY SYARIAH

- (3) **PIHAK PERTAMA** tidak bertanggung jawab atas keterlambatan dan/atau tidak terbayarnya sejumlah dana sebagaimana dimaksud pada ayat (1) yang disebabkan karena kesalahan **PIHAK KEDUA** dalam menyampaikan data peneliti, nama bank, nomor rekening, dan persyaratan lainnya yang tidak sesuai dengan ketentuan.

Pasal 4
Jangka Waktu

Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 sampai selesai 100%, adalah terhitung sejak **17 April 2017** dan berakhir pada **31 Oktober 2017**.

Pasal 5
Target Luaran

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk mencapai target luaran wajib penelitian berupa: -
- (2) **PIHAK KEDUA** diharapkan dapat mencapai target luaran tambahan penelitian berupa:-
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk melaporkan perkembangan pencapaian target luaran sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 6
Hak dan Kewajiban Para Pihak

- (1) Hak dan Kewajiban **PIHAK PERTAMA**:
 - a. **PIHAK PERTAMA** berhak untuk mendapatkan dari **PIHAK KEDUA** luaran penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7;
 - b. **PIHAK PERTAMA** berkewajiban untuk memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) dan dengan tata cara pembayaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3.
- (2) Hak dan Kewajiban **PIHAK KEDUA**:
 - a. **PIHAK KEDUA** berhak menerima dana penelitian dari **PIHAK PERTAMA** dengan jumlah sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1);
 - b. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyerahkan kepada **PIHAK KEDUA** luaran **PENELITIAN PRODUK TERAPAN (PPT)** dengan judul sebagaimana tersebut dalam Pasal 1 dan catatan harian pelaksanaan penelitian;
 - c. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk bertanggungjawab dalam penggunaan dana penelitian yang diterimanya sesuai dengan proposal kegiatan yang telah disetujui;
 - d. **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** laporan penggunaan dana sebagaimana dimaksud dalam Pasal 7.

Pasal 7
Laporan Pelaksanaan Penelitian

- (1) **PIHAK KEDUA** berkewajiban untuk menyampaikan kepada **PIHAK PERTAMA** berupa laporan kemajuan dan laporan akhir mengenai luaran penelitian dan rekapitulasi penggunaan anggaran sesuai dengan jumlah dana yang diberikan oleh **PIHAK PERTAMA** yang tersusun secara sistematis sesuai buku Panduan Pelaksanaan Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat di PT edisi XI.
- (2) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah:
 - (a) Laporan Kemajuan,
 - (b) Catatan Harian Penelitian, dan
 - (c) Salinan Rekapitulasi Penggunaan Anggaran 70% yang telah dilaksanakan ke SIMLITABMAS paling lambat **15 September 2017**; serta menyerahkan *hardcopy* berkas-berkas tersebut ke **PIHAK PERTAMA**.
- (3) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengunggah:
 - (a) Laporan Tahunan,
 - (b) Catatan Harian Penelitian (lanjutan), dan
 - (c) Rekapitulasi Penggunaan Anggaran 100% pada SIMLITABMAS paling lambat tanggal **31 Oktober 2017** (untuk penelitian BUKAN tahun terakhir), serta menyerahkan *hardcopy* berkas-berkas tersebut ke **PIHAK PERTAMA**.

Sedangkan bagi bagi peneliti tahun terakhir berkas pada ayat (3) ditambah dengan:

 - (d) Capaian hasil,
 - (e) Poster,
 - (f) Artikel ilmiah (atau draftnya), dan
 - (g) Profil penelitian pada SIMLITABMAS paling lambat **31 Oktober 2017**; serta menyerahkan *hardcopy* butir (a), (b), dan (c) dan BUKTI UNGGAH butir (d), (e), (f), dan (g) ke **PIHAK PERTAMA**.
- (4) Laporan hasil Penelitian sebagaimana tersebut pada ayat (4) harus memenuhi ketentuan sebagai berikut:
 - a. Bentuk/ukuran kertas A4;
 - b. Di bawah bagian cover ditulis:

Dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Penelitian
Nomor: 118/SP2H/LT/DRPM/IV/2017

- (7) **PIHAK KEDUA** berkewajiban mengirimkan 1 (satu) eksemplar Laporan Hasil Penelitian (tidak termasuk catatan harian dan laporan keuangan) kepada:
- Perpustakaan Nasional RI, Jl. Salemba Raya 28A, Jakarta 10002;
 - Pusat Dokumentasi Ilmiah Indonesia (PDII), Jl. Gatot Subroto, Jakarta;
 - Bappenas c.q. BIRO APKO, Jl. Suropati No. 2 Jakarta; dan
 - Perpustakaan Program Studi peneliti bersangkutan (berupa *softcopy*).
- Bukti pengiriman dan/atau tanda terima Laporan Akhir Hasil Penelitian disimpan oleh kepada **PIHAK PERTAMA** dan salinannya diserahkan kepada **PIHAK KEDUA**.

Pasal 8 Monitoring dan Evaluasi

PIHAK PERTAMA dalam rangka pengawasan akan melakukan Monitoring dan Evaluasi internal terhadap kemajuan pelaksanaan Penelitian Tahun Anggaran 2017 ini sebelum pelaksanaan Monitoring dan Evaluasi eksternal oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

Pasal 9 Penilaian Luaran

- Penilaian luaran penelitian dilakukan oleh Komite Penilai/*Reviewer* Luaran sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
- Apabila dalam penilaian luaran terdapat luaran tambahan yang tidak tercapai maka dana tambahan yang sudah diterima oleh peneliti harus disetorkan kembali ke kas negara.

Pasal 10 Perubahan Susunan Tim Pelaksana dan Substansi Pelaksanaan

Perubahan terhadap susunan tim pelaksana dan substansi pelaksanaan Penelitian ini dapat dibenarkan apa bila telah mendapat persetujuan tertulis dari Direktur Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

Pasal 11 Penggantian Ketua Pelaksana

- Apabila **PIHAK KEDUA** selaku ketua pelaksana tidak dapat melaksanakan Penelitian ini, maka **PIHAK KEDUA** wajib mengusulkan pengganti ketua pelaksana yang merupakan salah satu anggota tim kepada **PIHAK PERTAMA**.
- Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan tugas dan tidak ada pengganti ketua sebagaimana dimaksud pada ayat(1), maka **PIHAK KEDUA** harus mengembalikan dana penelitian kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya disetor ke Kas Negara.
- Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (2) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 12 Sanksi

- Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan Penelitian ini telah berakhir, namun **PIHAK KEDUA** belum menyelesaikan tugasnya, terlambat mengirim laporan Kemajuan, dan/atau terlambat mengirim laporan akhir, maka **PIHAK KEDUA** dikenakan sanksi administratif berupa penghentian pembayaran dan tidak dapat mengajukan proposal penelitian dalam kurun waktu dua tahun berturut-turut.

- (2) Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat mencapai target luaran sebagaimana dimaksud dalam Pasal 5, maka kekurangan capaian target luaran tersebut akan dicatat sebagai hutang **PIHAK KEDUA** kepada **PIHAK PERTAMA** yang apabila tidak dapat dilunasi oleh **PIHAK KEDUA**, akan berdampak pada kesempatan **PIHAK KEDUA** untuk mendapatkan pendanaan penelitian atau hibah lainnya yang dikelola oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 13
Pembatalan Perjanjian

- (1) Apabila di kemudian hari terhadap judul Penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 ditemukan adanya duplikasi dengan Penelitian lain dan/atau ditemukan adanya ketidakjujuran, itikad tidak baik, dan/atau perbuatan yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah dari atau dilakukan oleh **PIHAK KEDUA**, maka perjanjian penelitian ini dinyatakan batal dan **PIHAK KEDUA** wajib mengembalikan dana penelitian yang telah diterima kepada **PIHAK PERTAMA** yang selanjutnya akan disetor ke Kas Negara.
- (2) Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (1) disimpan oleh **PIHAK PERTAMA**.

Pasal 14
Pajak-Pajak

Hal-hal dan/atau segala sesuatu yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa PPN dan/atau PPh menjadi tanggungjawab **PIHAK KEDUA** dan harus dibayarkan oleh **PIHAK KEDUA** ke kantor pelayanan pajak setempat sesuai ketentuan yang berlaku.

Pasal 15
Peralatan dan/alat Hasil Penelitian

Hasil Pelaksanaan Penelitian ini yang berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari pelaksanaan Penelitian ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Universitas Ahmad Dahlan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Pasal 16
Penyelesaian Sengketa

Apabila terjadi perselisihan antara **PIHAK PERTAMA** dan **PIHAK KEDUA** dalam pelaksanaan perjanjian ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan mufakat, dan apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah dan mufakat maka penyelesaian dilakukan melalui proses hukum.

Pasal 17
Lain-lain

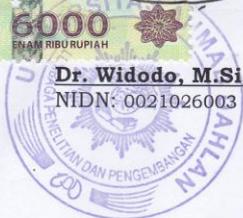
- (1) **PIHAK KEDUA** menjamin bahwa penelitian dengan judul tersebut di atas belum pernah dibiayai dan/atau diikutsertakan pada Pendanaan Penelitian lainnya, baik yang diselenggarakan oleh instansi, lembaga, perusahaan atau yayasan, baik di dalam maupun di luar negeri.
- (2) Segala sesuatu yang belum cukup diatur dalam Perjanjian ini dan dipandang perlu diatur lebih lanjut dan dilakukan perubahan oleh **PARA PIHAK**, maka perubahan-perubahannya akan diatur dalam perjanjian tambahan atau perubahan yang merupakan satu kesatuan dan bagian yang tidak terpisahkan dari Perjanjian ini.

Perjanjian ini dibuat dan ditandatangani oleh PARA PIHAK pada hari dan tanggal tersebut di atas, dibuat dalam rangkap 2 (dua) dan bermeterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, yang masing-masing mempunyai kekuatan hukum yang sama.

PIHAK PERTAMA,



Dr. Widodo, M.Si.
NIDN: 0021026003



PIHAK KEDUA,

TRIANIK WIDYANINGRUM S.Si, M.Si.
NIDN: 0514917091

Mengetahui
Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,



Dr. Trikinasih Handayani, M.Si.
NIDN: 0007095901



SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB BELANJA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

1. Nama : Trianik Widyaningrum, M.Si
2. Alamat : Kuncen WB I/ 533 Yogyakarta

Berdasarkan Surat Keputusan Nomor 01/E/KPT/2017 tanggal 6 Januari 2017 dan perjanjian kontrak Nomor 118/SP2H/LT/DRPM/IV/2017 tanggal 17 April 2017 mendapatkan Anggaran Penelitian Identifikasi Gen *pdc* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol sebesar Rp 52.500.000,- Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Biaya kegiatan penelitian di bawah ini meliputi:

No	Uraian	Jumlah
1	Pembelian Nira Aren, kelapa, nipah dan siwalan	2.000.000
2.	Transportasi pembelian Nira	1.800.000
3.	Preparasi sampel Nira untuk mendapatkan isolat	6.000.000
4.	Skreening isolat untuk mendapatkan isolat unggul	6.000.000
5.	Pembelian alat dan bahan penelitian	10.500.000
6.	Uji laboratorium	2.550.000
7	Analisis data	1.000.000
8	ATK	500.000
9	Seminar Nasional	800.000
10	Seminar internasional	2.500.000
11	Transportasi seminar Internasional	1.000.000
12	Translate naskah	500.000
13	Pembuatan laporan penelitian	150.000
14	Honorarium Ketua peneliti dan anggota	15.750.000
15	Transport Teknisi Laboratorium	1.500.000
	JUMLAH	52.550.000

2. Jumlah uang tersebut pada angka 1, benar-benar dikeluarkan untuk pelaksanaan kegiatan penelitian yang dimaksud.



**PERGURUAN TINGGI MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN**
Jalan Gondosuli 01 Yogyakarta 55166, Telp.(0274) 542886, Fex. (0274) 542886

3. Bersedia menyimpan dengan baik seluruh bukti-bukti pengeluaran belanja yang telah dilaksanakan.
4. Bersedia untuk dilakukan pemeriksaan terhadap bukti-bukti pengeluaran oleh aparat pengawas fungsional pemerintah.
5. Apabila di kemudian hari, pernyataan yang saya buat ini mengakibatkan kerugian Negara maka saya bersedia dituntut penggantian kerugian negara dimaksud sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Yogyakarta, 10 November 2017



Trianik Widyaningrum, M.Si

113/ BIOLOGI (BIOTEKNOLOGI UMUM)

**LAPORAN AKHIR HIBAH
PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL INSTITUSI**



**IDENTIFIKASI GEN *pdh* dan *adh* DARI *Saccharomyces cerevisiae*
INDIGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH,
DAN SIWALAN UNTUK PRODUKSI ETANOL**

TIM PENGUSUL:

**Trianik Widyaningrum, M.Si NIDN : 0514017001
Listiatie Budi Utami, M.Sc NIDN : 0018096902**

**PENELITIAN INI DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN KONTRAK PENELITIAN
NOMOR: 109/SP2H/LT/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
November, 2018**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : IDENTIFIKASI GEN *pdc* dan *adh* DARI *Saccharomyces cerevisiae* INDIGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH, DAN SIWALAN UNTUK PRODUKSI ETANOL

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : TRIANIK WIDYANINGRUM, S.Si, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
NIDN : 0514017001
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Pendidikan Biologi
Nomor HP : 0816682123
Alamat surel (e-mail) : trianikwidyaningrum@ymail.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : Dra LISTIATIE BUDI UTAMI M.Sc.
NIDN : 0018096902
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : Pedagang Kelapa
Alamat : Wates kulon Progo
Penanggung Jawab : Arzan Winarno
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 65,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 187,500,000



Mengetahui,
Dekan FKIP UAD

(Dr. Trikmasih Handayani, M.Si)
NIP/NIK 195909071985032002

Kota Yogyakarta, 9 - 11 - 2018
Ketua,

(TRIANIK WIDYANINGRUM, S.Si, M.Si)
NIP/NIK 60970160



Menyetujui,
Kepala LPPM UAD

(Dr. Widodo, M.Si)
NIP/NIK 196002211987091001

RINGKASAN

Sumber energi utama yang biasa digunakan oleh masyarakat berasal dari energi fosil, terutama minyak bumi. Krisis energi menunjukkan bahwa cadangan energi fosil Indonesia terbatas. Berdasarkan fakta ini, penting untuk mengembangkan energi alternatif yang ramah lingkungan dan berkelanjutan, misalnya bioetanol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk optimasi produksi bioetanol dari khamir terpilih dan mengidentifikasi khamir indigenus dari nira aren, kelapa, nipah, dan sialan siwalan yang berpotensi untuk produksi bioetanol. Optimasi produksi dari isolat unggul dilakukan menggunakan medium kelapa dengan mengamati beberapa parameter, yaitu kadar bioetanol (menggunakan alkohol meter), gula reduksi dengan metode DNS, dan jumlah sel dengan spektrofotometer (600nm). Identifikasi dilakukan dengan menggunakan ITS 1 dan ITS 4. Hasil optimasi produksi dari 14 isolat unggul diperoleh 4 isolat unggul dari masing masing sumber nira, yaitu A3A (dari Aren), K1A (dari kelapa), N3E (dari nipah), dan S1A (dari siwalan) dengan kadar bioetanol masing-masing 2,71 %, 2,68 %, 2,72 %, dan 3,8 %. Hasil identifikasi menggunakan primer ITS 1 dan 4, menunjukkan bahwa A3A dan N3E similar dengan *Pichia deserticola* CBS 7119^T, sedangkan isolat K1A similar dengan *Pichia manshurica* CBS 240^T, dan isolat S1A similar dengan *Candida tropicalis* ZA021^T.

Kata Kunci: isolat unggul, *Pichia deserticola*, *Pichia manshurica*, *Candida tropicalis*

PRAKATA



Alhamdulillahirobbilalamin. Segala puji hanya bagi Allah yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penelitian yang berjudul Identifikasi Gen *pdh* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol tahun kedua ini telah selesai dilaksanakan.

Dalam penulisan dan penyusunan laporan akhir penelitian ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal, Penguatan Riset dan Pengembangan yang telah memberikan dana Hibah Penelitian Strategis Nasional Institusi ini.
2. Dr. H. Kasiyarno, M.Hum. selaku Rektor Universitas Ahmad Dahlan.
3. Dr. Trikinasih Handayani, M.Si selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Ahmad Dahlan.
4. Dr. Widodo, M.Si selaku Kepala LPPM Universitas Ahmad Dahlan
5. LPPM dan Jajarannya yang telah memberikan bantuan dan motivasi.
6. Teknisi laboratorium yang telah membantu dalam penelitian ini
7. Suami dan anak-anakku yang telah memberikan motivasi hingga terlaksananya penelitian ini.
8. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua dan semoga penelitian ini dapat bermanfaat sebagai ilmu tambahan dan semoga karya ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Aamiin.

Yogyakarta, 13 November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yang berperan pada Fermentasi Glukosa	4
2.2 Produksi bioetanol.....	5
2.3 Siklus Metabolisme Etanol pada Mikroorganisme.....	7
2.4 Nira.....	8
2.5 Tanaman Penghasil Nira.....	9
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	11
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	12
4.1 Optimasi Produksi Etanol oleh Khamir Terpilih.....	12
4.2 Identifikasi <i>Khamir indegenous</i> nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan berdasarkan sekuen ITS.....	13
BAB V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	16
5.1 Hasil yang Dicapai.....	16
5.2 Luaran yang Dicapai.....	22
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN.....	25

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Produksi Etanol dengan Berbagai Macam Bahan Baku.....	6
Tabel 2. Luaran yang dicapai.....	23

DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 1. Siklus metabolisme etanol.....	9
Gambar 2. Tahapan Penelitian selama 3 tahun.....	12
Gambar 3 Kadar gula reduksi sebelum dan setelah fermentasi.....	16
Gambar 4. pH Media sebelum dan setelah fermentasi.....	17
Gambar 5. Jumlah Sel sebelum dan setelah fermentasi.....	17
Gambar 6. Kadar etanol sebelum dan setelah fermentasi.....	18
Gambar 7. Hasil Blast isolat A3A.....	19
Gambar 8. Hasil Blast isolat K1A.....	19
Gambar 9. Hasil Blast isolat N3E.....	20
Gambar 10. Hasil Blast isolat S1A.....	20
Gambar 11. Pohon Filogeni isolat A3A, K1A, dan N3E.....	21
Gambar 13. Pohon Filogeni isolat S1A.....	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
Lampiran 1. Bukti Luaran yang dicapai.....	28
1.a. Bukti <i>Accepted di Gontor Agrotech Science Journal</i>	28
1.b. Naskah <i>Gontor Agrotech Science Journal</i>	29
1.c. Sebagai Pemakalah dalam International Conference on Global Resource Conservation (ICGRC).....	38
1.d. Sebagai pemakalah dalam International Conference on Green Agro-Industry and Bioeconomy.....	39
1.e. Draf Paten.....	40
Lampiran 2. Surat Pernyataan dan BAST	
2.a. Surat Pernyataan telah menyelesaikan laporan.....	47
2.b. Berita Acara Serah Terima Laporan.....	48
2.c. Berita Acara Penyelesaian Pekerjaan.....	49

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan bakar fosil, terutama minyak bumi, batu bara, dan gas alam, merupakan sumber energi utama bagi sebagian besar industri dan masih merupakan bahan baku yang paling penting untuk menghasilkan energi di dunia. Saat ini, nilai pasar energi dunia sekitar 1,5 triliun dolar didominasi oleh bahan bakar fosil (Goldemberg, 2006). Namun, sumber-sumber ini tidak lagi dianggap berkelanjutan, dan ketersediaannya jauh lebih sedikit. Shafiee dan Topal (2009) meramalkan bahwa minyak, batubara, dan gas hanya akan tersisa rata-rata berturut-turut 35, 107, dan 37 tahun. Selain itu bahan bakar tersebut menimbulkan dampak lingkungan seperti pemanasan global akibat emisi gas rumah kaca (Naik dkk., 2010). Oleh karena itu, diperlukan sumber energi terbarukan, berkelanjutan, dan ramah lingkungan seperti biomassa. Biomassa ini biasanya dibagi dalam tiga kategori: kayu, residu dari pertanian, dan energi dari tanaman pertanian (Bringezu dkk., 2007).

Penggunaan sumber daya terbarukan untuk menghasilkan bahan bakar telah menciptakan dua generasi yang berbeda dalam produksi *biofuel*. Generasi *biofuel* pertama didasarkan pada biji-bijian atau sumber makanan dan didasari terutama oleh etanol, yaitu *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME), dan *Pure Plant Oil* (PPO) (Bringezu dkk., 2007). Namun, dampak lingkungan, efisiensi energi, dan eutrofikasi telah membatasi produksi biofuel generasi pertama. Kompetisi lahan tanaman energi dengan tanaman pangan telah muncul perdebatan, bahan bakar-versus-makanan diperburuk oleh kenaikan harga pangan, terutama bahan dari jagung, gandum, gula bit, singkong, sorgum manis, tebu, minyak lobak, kedelai, dan kelapa sawit (Vries dkk., 2010; Börjesson dan Tufvesson, 2011)

Departemen Energi Amerika Serikat melaporkan bahwa pada tahun 2005 produksi bioetanol jagung mencapai sekitar 15 miliar liter, 13 % dari total tanaman jagung AS digunakan untuk produksi bioetanol tersebut. Nilai-nilai tersebut diperkirakan dua kali lipat pada tahun 2010 oleh *Renewable Fuel Association* (Cassman & Liska, 2007). Generasi kedua *biofuel* dihasilkan dari non-gandum dan sumber non-makanan seperti lignoselulosa dan biomassa alga (Simmons dkk., 2008;

Naik dkk., 2010). Bahan baku lignoselulosa termasuk produk agroindustri seperti rumput, sayuran, dan residu kayu. Bahan tersebut dapat dibakar untuk menghasilkan panas dan listrik juga dapat digunakan untuk memperoleh bahan bakar cair (Naik dkk., 2010).

Penelitian produksi bioetanol melalui fermentasi telah banyak dipublikasi di luar negeri dengan menggunakan berbagai strain mikroorganisme, seperti bakteri, ragi (*yeast*), dan jamur dengan sumber karbon yang berbeda (Dien *et al.* 2003; Desai *et al.* 2004; Demain *et al.* 2005; Chinn *et al.* 2006; Stephanopoulos 2007; Riyanti dan Rogers 2009). Penelitian terbaru produksi bioetanol telah dilakukan melalui rekayasa genetik dengan menggunakan gen-gen penyandi bioetanol, yaitu piruvat dekarboksilase (*pdh*) dan alkohol dehidrogenase (*adh*) dari mikroorganisme dengan menggunakan bahan baku yang murah, seperti biomassa lignoselulosa dengan menambahkan gen pemecah selulosa menjadi gula sederhana. Bioetanol umumnya diproduksi dengan bantuan mikroorganisme jenis ragi dengan sumber karbon gula sederhana dari tetes tebu (molase), jagung atau tebu (Riyanti, 2011).

Selain tetes tebu (molase), bahan baku lain yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber etanol adalah Nira. Nira merupakan cairan manis mengandung gula pada konsentrasi 7,5 sampai 20,0 % yang terdapat di dalam bunga tanaman aren, kelapa, dan lontar yang pucuknya belum membuka dan diperoleh dengan cara penyadapan (Dyanti, 2002).

Penelitian tentang produksi etanol dengan berbagai macam bahan baku sudah dilakukan yaitu oleh Sebayang (2006), Wardani dan Pertiwi (2013) menggunakan molase, Wijaya dan Arthawan (2012) menggunakan nira kelapa, Chairul dan Yenti (2013) serta Hadi dkk.(2013) menggunakan nira nipah.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan berkaitan dengan nira dan molase sebagai bahan pembuatan etanol dengan memanfaatkan *Saccharomyces cerevisiae*, kebaruan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan identifikasi *Saccharomyces cerevisiae indigenous* dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Hasil dari identifikasi tersebut kemudian dicari species yang paling berpotensi untuk produksi etanol. Selain itu akan dilakukan identifikasi gen *pdh* (piruvat dekarboksilase) yang berperan mengubah piruvat menjadi asetaldehid dan

gen *adh* (Alkohol dehidrogenase) yang mengubah asetaldehid menjadi etanol dalam *Saccharomyces cerevisiae*. Diharapkan dari hasil penelitian ini diperoleh isolat yang paling potensial untuk produksi etanol. Setelah diketahui adanya gen *pdc* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* indigenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan diharapkan gen tersebut dapat dimanipulasi untuk produksi etanol pada skala industri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Khamir *indigenous* dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan apakah yang paling berpotensi untuk produksi etanol?
2. Species khamir *indigenous* apakah yang dijumpai pada nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang produktif untuk produksi bioetanol?

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan pada Fermentasi Glukosa

Saccharomyces cereviceae merupakan khamir sejati tergolong eukariotik yang secara morfologi membentuk blastospora berbentuk lonjong, silindris, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya. Khamir *S. cereviceae* dapat membelah diri melalui “*budding cell*”. Reproduksi dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel. Penampilan makroskopik mempunyai koloni berbentuk bulat, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-8 buah (Nikon, 2004). Khamir ini bersifat nonpatogenik dan nontoksik, sehingga sejak dahulu banyak digunakan dalam berbagai proses fermentasi seperti pada pembuatan roti dan alkohol. Khamir *S. cerevisiae* tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan aktivitasnya pada suhu 4-32 °C, memerlukan kondisi lingkungan yang cocok untuk pertumbuhannya, yaitu nutrisi sebagai sumber energi terutama gula, pH optimum 4-5, temperatur optimum 28-30 °C serta kebutuhan akan oksigen terutama pada awal pertumbuhan (Hidayat, 2006).

Khamir *S. cerevisiae* memetabolisme glukosa melalui jalur Embden-Meyerhof (EM) (Lin and Tanaka, 2006) dan merupakan khamir fermentatif kuat. Apabila ada oksigen *S. cerevisiae* juga dapat melakukan respirasi yaitu mengoksidasi gula menjadi karbon dioksida dan air. Oleh karena itu bergantung pada kondisi pertumbuhan, Khamir *S. cerevisiae* dapat mengubah sistem metabolismenya dari fermentatif menjadi oksidatif (respirasi). Khamir *S. cerevisiae* bersifat anaerob yang mampu mengubah asam piruvat menjadi etanol melalui proses fermentasi. Khamir *S. cerevisiae* juga paling sering digunakan dalam produksi etanol karena memenuhi syarat untuk fermentasi etanol. Pertumbuhan khamir optimal pada pH 4,0-4,5. Khamir tumbuh dengan baik pada suasana aerob namun untuk khamir fermentatif dapat tumbuh pada suasana anaerob. Kadar gula yang optimal untuk pertumbuhan khamir adalah 10 %, tetapi kadar gula yang optimal untuk permulaan fermentasi adalah 16 % (Landry dkk., 2006)

2.2 Produksi Bioetanol

Bioetanol (*bioethanol*) merupakan etanol (etil alkohol) yang proses produksinya menggunakan bahan baku alami dan proses biologis. Pengembangan bioenergi seperti bioetanol dari biomassa sebagai sumber bahan baku yang dapat diperbarui merupakan satu alternatif yang memiliki nilai positif dari aspek sosial dan lingkungan (Samsuri dkk., 2007). Bioetanol berbeda dengan etanol sintetik yang diperoleh dari sintesis kimiawi senyawa hidrokarbon. Etanol yang digunakan sebagai bahan bakar kendaraan memiliki struktur kimia yang persis sama dengan etanol yang ditemukan pada minuman keras. Etanol yang digunakan untuk bahan bakar disebut dengan *Fuel Grade Ethanol (FGE)* dengan tingkat kemurnian 99 %.

Bahan baku yang digunakan untuk produksi bioetanol ada 4 macam yaitu

a. Gula (*glucose*)

Gula (glukosa) merupakan bentuk bahan baku yang paling sederhana dengan rumus kimia $C_6H_{12}O_6$, berbeda dengan pengertian gula sehari-hari yang mengandung sukrosa, laktosa dan fruktosa. Gula dapat diperoleh dari tebu (*sugarcane*) melalui hasil sampingan produksinya berupa tetes (*molases*).

b. Pati (*starch*)

Pati banyak ditemukan pada jagung, singkong, sagu dan beragam makanan pokok manusia yang mengandung karbohidrat. Rumus kimia dari pati adalah $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan jumlah n antara 40 – 3.000. Sebagai bahan baku bioetanol, pati membutuhkan proses untuk memecah ikatan kimianya menjadi glukosa.

c. Selulosa (*cellulose*)

Selulosa merupakan polisakarida dengan rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_n$, dengan jumlah n ribuan hingga lebih dari puluhan ribu, yang membentuk dinding tanaman dan kayu. Selulosa diperkirakan akan mendominasi bahan baku bioetanol di masa mendatang. Sebagai bahan baku bioetanol, selulosa membutuhkan pengolahan awal yang lebih intensif dibandingkan dengan bahan baku lain. Untuk melakukan proses *hydrolysis* (merubah struktur selulosa menjadi glukosa) dapat ditempuh menggunakan penambahan asam yang dilarutkan pada suhu dan tekanan tinggi.

Proses tersebut membutuhkan energi yang cukup besar sehingga *net energy gain* yang dihasilkan menurun (Atmojo, 2010).

d. Tetes Tebu (Molase)

Tetes tebu (molase) merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir yang masih mengandung gula dan asam-asam organik sehingga merupakan bahan baku yang baik untuk pembuatan etanol. Dibandingkan bahan baku lain, tetes tebu (molase) mempunyai keunggulan yaitu selain harganya murah juga mengandung 50 % gula sederhana yang dapat difermentasi langsung oleh khamir menjadi etanol tanpa *pretreatment*. Molase merupakan limbah pengolahan tebu dengan kuantitas sebesar 5 % dari total produksi. Molase umumnya dimanfaatkan sebagai salah satu bahan baku bioethanol dengan koefisiensi konversi sebesar 52 % dari total biomassa yang digunakan (Wardani dkk., 2013). Produksi Etanol dengan berbagai macam bahan baku dapat dilihat pada Tabel 1.

2.3 Siklus Metabolisme Etanol pada Mikroorganisme

Di dalam sel mikroorganisme, gula yang dapat difermentasi akan diubah menjadi senyawa antara (*intermediate*) umum, piruvat, melalui tiga siklus utama, yaitu Emden- Meyerhoff-Parnas (EMP), Entner-Doudoroff (ED), dan siklus pentosa fosfat (Gambar 1). Siklus metabolisme yang umum digunakan oleh mikroorganisme untuk memecah gula adalah siklus EMP (atau lebih terkenal dengan nama glikolisis). Siklus ini dapat terjadi pada kondisi aerobik maupun anaerobik, dan menghasilkan energi dalam bentuk adenosin trifosfat (ATP) melalui fosforilasi substrat (Prescott dan Harley, 2002). Siklus ED sangat mirip dengan EMP, dan kedua siklus berpusat pada piruvat. Namun, siklus EMP menghasilkan 2 mol ATP per mol glukosa yang digunakan, sedangkan siklus ED hanya menghasilkan 1 mol ATP. Sebagai konsekuensinya, biomassa lebih banyak dihasilkan pada siklus EMP. Oleh karena itu, organisme dengan siklus ED ini tidak diharapkan untuk produksi etanol. *Zymomonas mobilis*, misalnya, menggunakan siklus ED, menghasilkan etanol lebih tinggi (5–10 %) dan produktivitas etanol lebih tinggi (2,50 kali), tetapi menghasilkan biomassa yang lebih rendah dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae*, yang mempunyai siklus EMP (Dien dkk., 2003). Meskipun demikian, kedua mikroorganisme tersebut mengandung siklus homoetanol yang sangat efisien, yang

mengubah piruvat menjadi asetaldehida dengan menggunakan piruvat dekarboksilase (*pdh*), selanjutnya menjadi etanol dengan menggunakan alkohol dehidrogenase (*adh*) (Gambar 1).

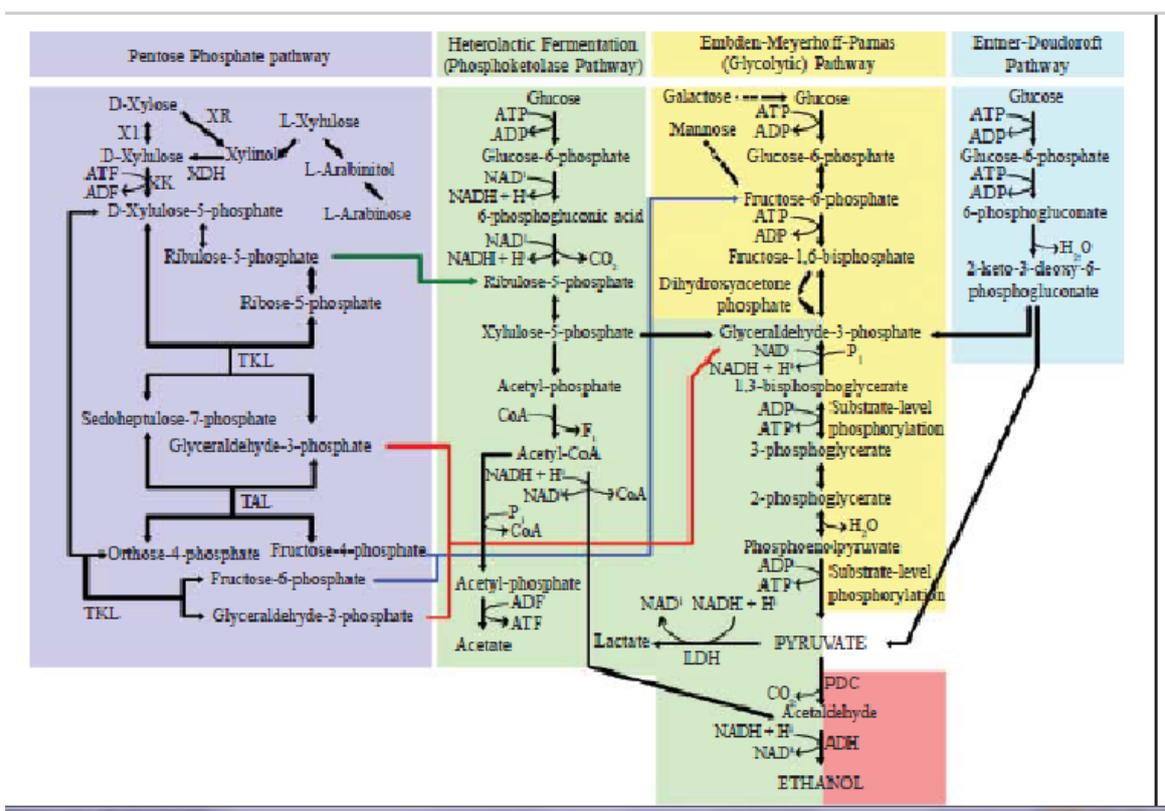
Tabel 1. Produksi Etanol dengan Berbagai Macam Bahan Baku

No.	Bahan Baku	Kondisi Fermentasi	Produksi Etanol (%)	Pustaka
1	Molase	Pemberian <i>bead</i> 10 g, Waktu inkubasi 36 jam	12,94	Sebayang, 2006
2	Molase	Kultur murni <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 10 %	8,792	Wardani dan Pertiwi, 2013
3	Nira kelapa	Fermentasi secara alami tanpa khamir	94 (destilasi 14 kali)	Wijaya dan Arthawan, 2012
4	Nira nipah	Kultur murni <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pH 4,5, fermentasi 36 jam	14	Chairul dan Yenti, 2013
5	Nira nipah	Khamir dari roti Waktu fermentasi 75,3-78 jam	99,56 (destilasi berulang-ulang)	Hadi dkk., 2013
6	Nira aren	Kultur murni <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pH 4,5 waktu fermentasi 72 jam	7	Ariyani dkk., 2015
7	Bagas	Enzim <i>xylanase</i> pH 5	2,709	Samssuri dkk., 2007
8	<i>Sargassum</i> sp	Fermentasi dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan waktu fermentasi 48 jam dan dilanjutkan dengan enzim <i>sellulase</i>	89	Borines dkk., 2013
9	Mikro dan makroalgae	Fermentasi dengan khamir, <i>Saccharifikasi</i> dengan Enzim <i>Alpha glukomylase</i>	80	John dkk., 2011
10	<i>Sargassum duplicatum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> waktu inkubasi 72 jam	0,0451±0,0098	Saputra dkk., 2012

2.4 Nira

Nira merupakan cairan manis mengandung gula pada konsentrasi 7,5 sampai 20,0 % yang terdapat di dalam bunga tanaman aren, kelapa dan lontar yang pucuknya belum membuka dan diperoleh dengan cara penyadapan. Komposisi nira dari suatu jenis tanaman dipengaruhi beberapa faktor yaitu antara lain varietas tanaman, umur tanaman, kesehatan tanaman, keadaan tanah, iklim, pemupukan, dan

pengairan. Air dalam nira merupakan bagian yang terbanyak yaitu antara 75 – 90 %, sukrosa terbanyak berkisar 12,30 – 17,40 %, gula reduksi antara 0,50 – 1,00 %, dan sisanya merupakan senyawa organik serta anorganik. Gula reduksi dapat terdiri dari heksosa, glukosa, dan fruktosa, serta mannanosa dalam jumlah yang sedikit sekali. Bahan organik terdiri dari karbohidrat (tidak termasuk gula), protein, asam organik, asam amino, zat warna, dan lemak. Bahan anorganik terdiri dari garam mineral (Kusumanto, 2010).



(Dimodifikasi dari Zhang dkk., 1995; Ingram dkk., 1998; Zaldivar dkk., 2001; Prescott dan Harley, 2002)

Gambar 1. Siklus metabolisme etanol

2.5 Tanaman penghasil nira

Negara Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan hasil pertanian, salah satunya adalah tanaman komoditi penghasil perkebunan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Salah satu komoditi tersebut adalah Nira. Nira adalah cairan yang disadap dari pohon Keluarga Palma, misalnya pohon aren, nipah, kelapa, dan siwalan. Nira mengandung gula antara 10-15 %. Nira merupakan

hasil asimilasi dari daun dalam bentuk karbohidrat dan disalurkan ke biji melalui jaringan floem yang secara alami diubah menjadi gula (glukosa) dan berbentuk nira. Nira tersebut dapat dihasilkan antara 4-5 Liter /hari-pohon (dua kali penyadapan), bergantung pada tingkat kesuburan pohon palm. Nira aren segar sampai kini masih digunakan untuk membuat adonan di perusahaan-perusahaan roti atau jamu tradisional (Chairul dan Yenti, 2013)

2.5.1 Aren (*Arenga pinnata* Merr)

Aren adalah salah satu keluarga palma yang serbaguna, dapat tumbuh pada ketinggian 0-1.500 meter di atas permukaan laut. Hampir semua bagian tanaman aren berguna bagi manusia, baik untuk pangan maupun bahan baku industri dan energi terbarukan. Setiap pohon aren rata-rata menghasilkan 15 Liter nira/hari dengan rendemen gula sekitar 12 % yang dapat disadap terus-menerus selama 3 – 5 tahun. Kemampuan petani menyadap aren rata-rata 15 pohon/orang/hari sehingga setiap petani dapat menghasilkan nira rata-rata 225 Liter/hari yang dapat menghasilkan etanol berkadar 80 % sekitar 19 Liter/hari atau 570 Liter/bulan. Secara teoritis potensi aren sebagai penghasil gula lebih tinggi dibandingkan tebu per satuan luas lahan (David, 2007).

2.5.2 Kelapa (*Cocos nucifera* L.)

Tanaman kelapa sebagai tanaman penghasil bahan bakar nabati, potensinya lebih baik dibandingkan jenis tanaman perkebunan lainnya, terutama penggunaan minyak murninya sebagai pengganti minyak tanah dengan memanfaatkan kompor bertekanan yang sesuai. Indonesia dan Filipina adalah dua produsen kelapa terbesar di dunia dengan luas area masing-masing 3,7 juta ha dan 3,1 juta ha. Potensi produksi nira kelapa adalah 360.000 s/d 720.000 liter/tahun/ha. Nira kelapa memiliki sifat sangat cepat terfermentasi sehingga kurang menguntungkan untuk diolah menjadi gula merah. Kondisi ini menambah besarnya kesempatan pemanfaatan nira kelapa untuk keperluan lain yaitu sebagai sumber BBN (Bahan Bakar Nabati) (Prastowo, 2007 dalam Wijaya & Arthawana, 2012).

2.5.3 Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb)

Indonesia memiliki potensi hutan nipah terluas di dunia dengan luas 700.000 hektar (Tamunaidu & Saka, 2011). Nipah adalah sejenis palem (palma) yang

tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang-surut air laut.. Salah satu alternatif pemanfaatan tanaman nipah adalah sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Total Komposisi kimia nira nipah adalah 19,5 % berat, terutama terdiri dari sukrosa, glukosa dan fruktosa (Tamunaidu & Saka, 2013). Tamunaidu & Saka (2013) juga menginformasikan bahwa potensi pohon nipah dapat menghasilkan 0,4 sampai 1,2 L nira nipah per pohon per hari. Menurut Dahlan dkk. (2009) nira nipah mengandung sukrosa sebanyak 13-17 %, ini merupakan suatu bahan yang sangat potensial untuk diolah menjadi bioetanol. Dalam proses fermentasi nira, oksigen tetap diperlukan walaupun sedikit, Khamir *S. cerevisiae* membutuhkan O₂ untuk mempertahankan kehidupan dan menjaga konsentrasi sel tetap tinggi (Hepworth, 2005).

2.5.4 Siwalan (*Borassus flabellifer* Linn)

Borassus flabellifer Linn atau lontar dapat ditemukan di negara-negara tropis seperti Thailand, Malaysia, Indonesia, India, Myanmar, Sri Lanka, dan Kamboja. Bagian yang paling penting produk pohon lontar adalah getah (nira), sirup, dan kue. Proses penyadapan nira lontar dengan melukai bagian bunga, sehingga merangsang aliran nira. Tiga sampai enam perbungaan diikat bersama-sama dan dimasukkan ke dalam wadah yang cocok untuk koleksi nira, biasanya menggunakan pot gerabah (Sri Lanka) atau tabung bambu (Thailand). Mikroorganisme menggunakan gula dalam nira sebagai sumber energi dan hasil fermentasinya. Fermentasi didominasi oleh khamir, khususnya *Saccharomyces cerevisiae* dan bakteri asam laktat. Nira lontar kaya gula (10-17 %), sehingga cepat terjadi fermentasi dan terjadi konversi menjadi asam dan etanol (Naknean dkk., 2015).

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui khamir *indigenous* dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang paling berpotensi untuk produksi etanol.
2. Untuk mengidentifikasi species khamir *indigenous* dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang paling berpotensi untuk produksi etanol.

3.2. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk:

a. Bidang pengetahuan

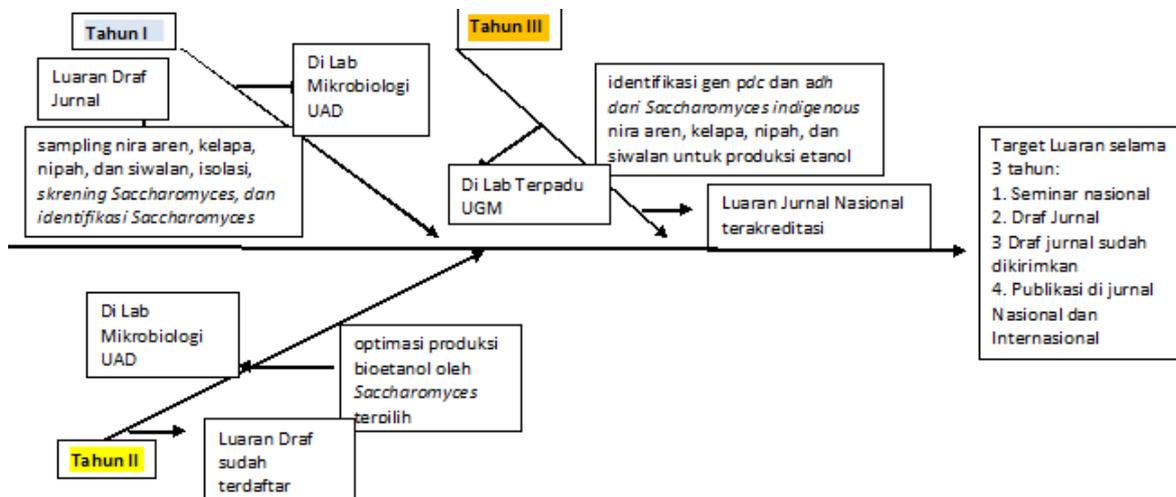
Memberikan informasi tentang isolat khamir dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang paling berpotensi untuk produksi etanol.

b. Bidang industri

Dengan diketahuinya gen penyandi etanol *pdh* dan *adh* dalam khamir diharapkan gen tersebut dapat direkayasa untuk produksi etanol dengan memanfaatkan berbagai macam limbah yang ada, misalnya limbah dari air kelapa

BAB IV. METODE PENELITIAN

Penelitian tentang identifikasi gen *pdh* dan *adh* dari khamir *indigenus* nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan untuk produksi etanol akan dilakukan dengan tiga tahap dalam 3 tahun, yaitu **tahun pertama** sampling nira, isolasi, dan *skrening* isolat terpilih.. **Tahun kedua** identifikasi khamir dari isolat terpilih, optimasi produksi bioetanol oleh khamir terpilih. **Tahun ketiga** identifikasi gen *pdh* dan *adh* dari khamir *indigenus* nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan untuk produksi etanol (Gambar 2).



Gambar 2. Tahapan Penelitian selama 3 tahun

4.1 Optimasi Produksi Etanol oleh Khamir Terpilih

Substrat yang digunakan pada produksi bioetanol adalah limbah air kelapa dan limbah buah yang diperoleh dari pasar buah di Malang. Rancangan penelitian menggunakan RAL dengan perlakuan konsentrasi substrat, suhu, dan waktu inkubasi. Langkah kerja diawali dengan pengambilan kultur khamir 10 mL dicampur 90 mL air kelapa atau limbah buah dan digunakan sebagai starter. Starter diambil 25 mL dicampur 225 mL air kelapa atau limbah buah dibuat konsentrasi 10, 15, 20, 25 %, kemudian diinkubasi pada suhu 20 °C, 30 °C, dan 45 °C selama 0, 2, 4, dan 6 hari, perlakuan diulang 3 kali. Parameter yang diamati meliputi jumlah sel, gula reduksi, pH, dan kadar etanol. Kadar etanol diukur dengan menggunakan GC-MS. Hasil pengamatan ditabulasikan dan dianalisis ragam 5 % dengan program SPSS versi 16 (Wardani dan Pertiwi, 2013).

4.2 Identifikasi *Saccharomyces* berdasarkan sekuen ITS (18S rDNA)

a. Ekstraksi DNA kromosomal *Saccharomyces*

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode Pitcher dkk. (1989). Sel khamir ditumbuhkan di media cair YEPD. Sel khamir dipanen dengan sentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 15–30 menit. Sel yang telah dipanen dibilas menggunakan 1 mL bufer TE dan disentrifugasi 10.000 rpm, selama 15 menit. Sel yang telah dipanen selanjutnya dipecah menggunakan 50 μ L *lizozim* (50 μ g/mL) kemudian digojog hingga homogen dan diinkubasi 37 °C selama 30 menit. Untuk melarutkan protein membran dan enzim, ditambahkan pereaksi GES sebanyak 250 μ L, dihomogenkan hingga larut sempurna dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Suspensi ditambah 125 μ L *ammonium acetate* 7,5 M dan ditempatkan dalam es selama 10 menit. Pemisahan DNA dari protein dan polisakarida dilakukan dengan menambahkan 500 μ L kloroform ke dalam larutan, dibolak-balik 50 kali, dan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Setelah selesai sentrifuse akan terbentuk 3 lapisan dan DNA berada pada lapisan paling atas. Endapan DNA diambil menggunakan pipet tumpul dan ditempatkan ke Ependrof yang baru. Untuk membentuk benang-benang DNA, ke dalam larutan DNA ditambahkan isopropanol setengah dari volume larutan DNA, kemudian dibolak-balik sampai terlihat benang-benang DNA, disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit hingga benang-benang DNA mengendap. Selanjutnya endapan DNA dicuci dengan etanol 70 % dingin, disentrifugasi kembali dan supernatan dibuang. Endapan DNA dikeringanginkan selama 10 menit, dilarutkan dalam 100 μ L 0,2X bufer TE, dan selanjutnya konsentrasi DNA diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm.

b. Amplifikasi sekuen 18S rDNA dengan PCR

Sekuen 18S rDNA diamplifikasi menggunakan GoTaq (Promega) dengan primer 20f dan 1500r, dengan komposisi 8,75 μ L *ultrapure water*, 12,5 μ L GoTag *Green Master Mix* 2X, 0,625 μ L primer 20f (10 μ M), 0,625 μ L primer 1500r (10 μ M), 0,5 μ L DMSO, dan 2 μ L sampel DNA, dengan total volume 25 μ L. Amplikon diamplifikasi dengan kondisi PCR 95 °C selama 3 menit,

dilanjutkan (95 °C, 30 detik denaturasi; 50 °C, 30 detik *annealing*; 72 °C, 90 detik elongasi) 30 siklus dan *final extension* pada 72 °C, 10 menit. Produk PCR kemudian dielektroforesis menggunakan gel agarosa 1 % (Pennacchia dkk., 2008).

c. Purifikasi produk PCR

Produk PCR (amplikon 18S rDNA) dipurifikasi dengan *PEG precipitation method*. Amplikon ditambah dengan 15 µL larutan PEG (40 % PEG 6.000 dalam 10 mM MgCl₂) dan 6 µL 3M sodium asetat. Suspensi digojog selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 16.000 rpm selama 25 menit. Endapan DNA yang terbentuk dicuci 2 kali dengan etanol 70 % dan dikeringanginkan selama 10 menit. Amplikon dilarutkan dalam 20 µL milli-Q dan dilanjutkan dengan *cycle sequencing*.

d. *Cycle sequencing* 18S rDNA

Amplikon 18S rDNA yang telah dipurifikasi dilanjutkan dengan *cycle sequencing*. Komposisi *cycle sequencing* 0,5 µL BDT Rrmix, 1,75 µL 5X *Seq buffer*, 0,5 µL *Seq primer* (10 µM) dengan primer 520f (5'GTGCCAGCAGCCGCGG-3') dan 920r (5'GTCAATTCCTTTGAGTTT-3'), amplikon 1,0 µL, dan 6,25 µL *ultrapure water*. *Cycle sequencing* dilakukan pada kondisi 95 °C selama 1 menit, dilanjutkan 40 siklus (95 °C, 10 detik denaturasi; 50 °C, 5 detik *annealing*; 60 °C, 90 detik *elongasi*) dan dilanjutkan pada 4 °C. Hasil *cycle sequencing* dipurifikasi kembali dengan *Ethanol purification method* (Pennacchia dkk., 2008).

e. Produk *cycle*

Hasil *Sequencing* ditambah 1 µL EDTA 125 mM, 1 µL natrium asetat 3 M, dan 25 µL etanol 99 %, kemudian digojog hingga homogen, diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit dan disentrifugasi pada kecepatan 16.000 rpm selama 25 menit 4 °C. Endapan DNA selanjutnya dicuci dengan etanol 70 %, disentrifugasi kembali dan endapan DNA dikeringanginkan 10 menit. Urutan nukleotida dibaca menggunakan *automated DNA sequencer* (ABI PRISM 3130 *Genetic Analyzer*) (*Applied Biosystems*). Data hasil sekuensing selanjutnya diolah dengan program Bioedit, Clustalx, dan Njplot. Data yang diperoleh dicari

homologinya atau dicocokkan dengan bank data DNA yang ada secara *online* di internet (www.ddbj.nig.ac.jp; www.ncbi.nlm.nih.gov) (Sulistiyani dan Widhyastuti, 2011).

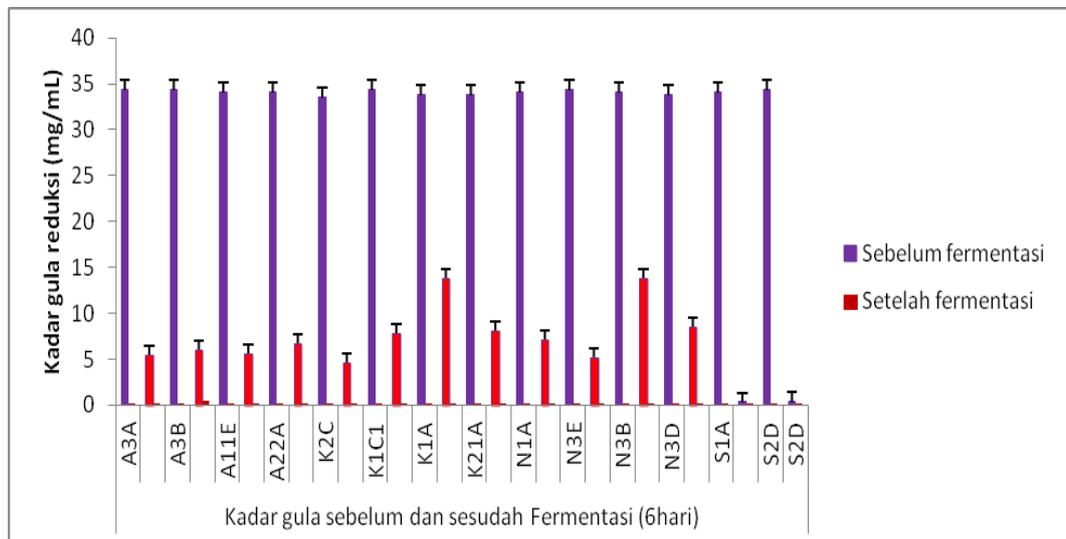
BAB V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. Hasil yang dicapai

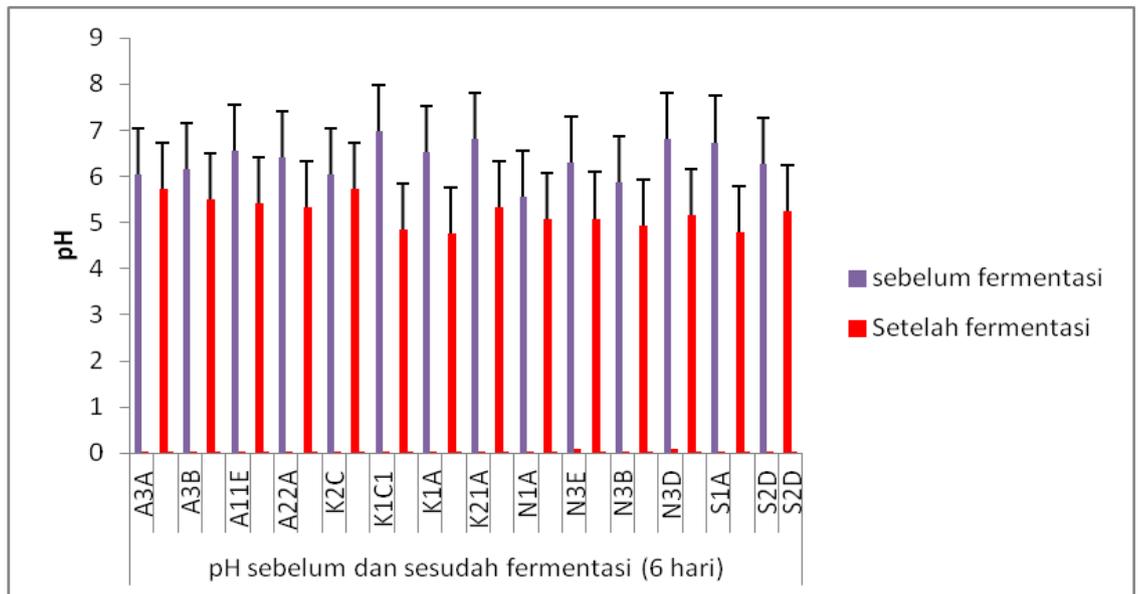
5.1a Hasil Optimasi Produksi Etanol oleh Khamir Terpilih

Pada penelitian tahun pertama sudah dilakukan sampling dan skreening nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Dari hasil skreening diperoleh 14 isolat unggul dari 28 isolat yang dijumpai dari ke 4 sumber nira tersebut. Keempat belas isolat tersebut yaitu A3A, A11E, A22A, A3B (dari aren), K1A, K1C1, K2C, K21A (dari kelapa), N1A, N3B, N3D, N3E (dari nipah), S1A, S2D (dari Siwalan) dengan kadar etanol berkisar antara 11,34%-16%.

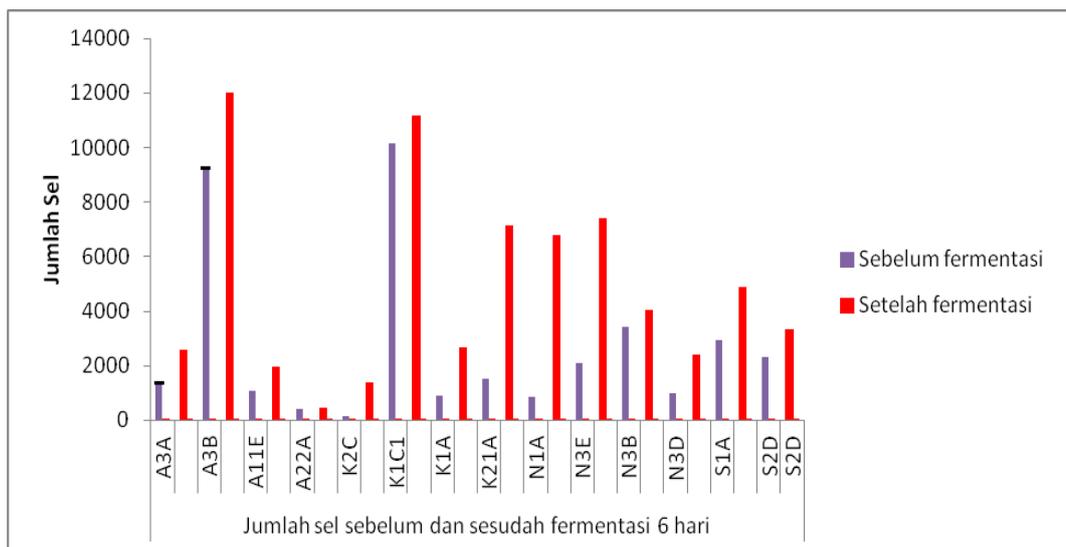
Langkah berikutnya berdasarkan 14 isolat unggul dilakukan optimasi produksi bioetanol dari isolat unggul dengan menggunakan air kelapa, dengan melihat kadar gula reduksi, pH media, jumlah sel, dan kadar etanol sebelum dan sesudah fermentasi dengan hasil seperti pada Gambar 3, 4, 5, dan 6 berikut.



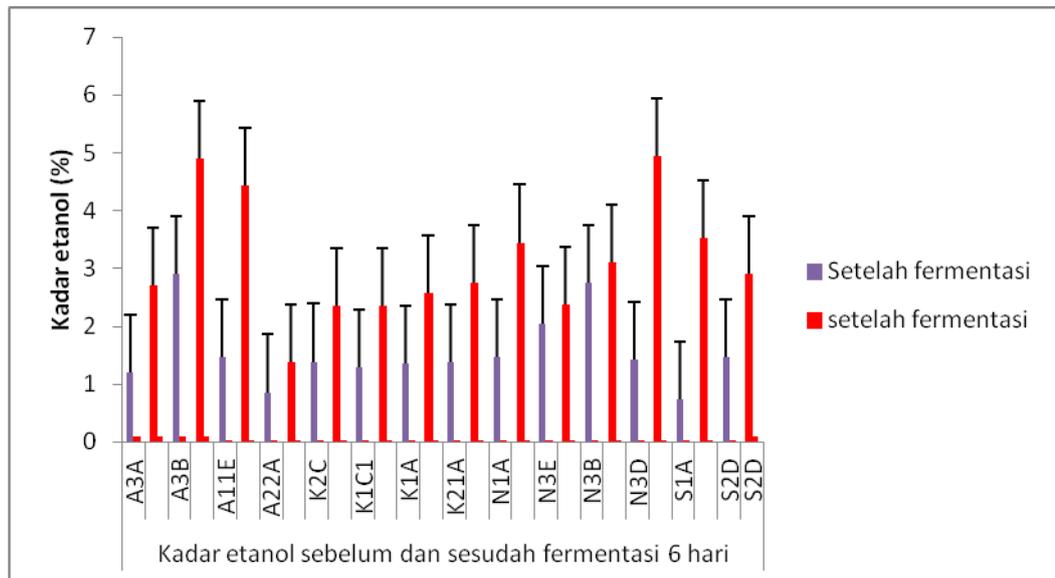
Gambar 3. Kadar gula reduksi sebelum dan setelah fermentasi



Gambar 4. pH Media sebelum dan setelah fermentasi



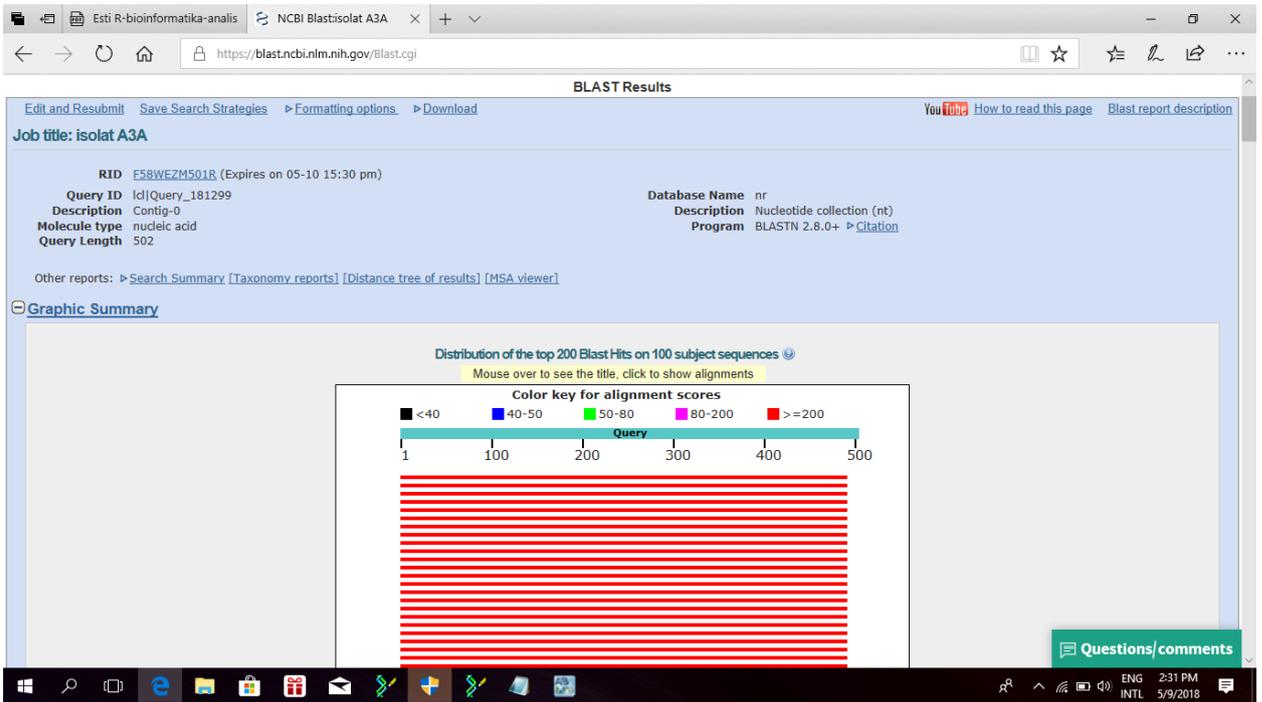
Gambar 5. Jumlah Sel sebelum dan setelah fermentasi



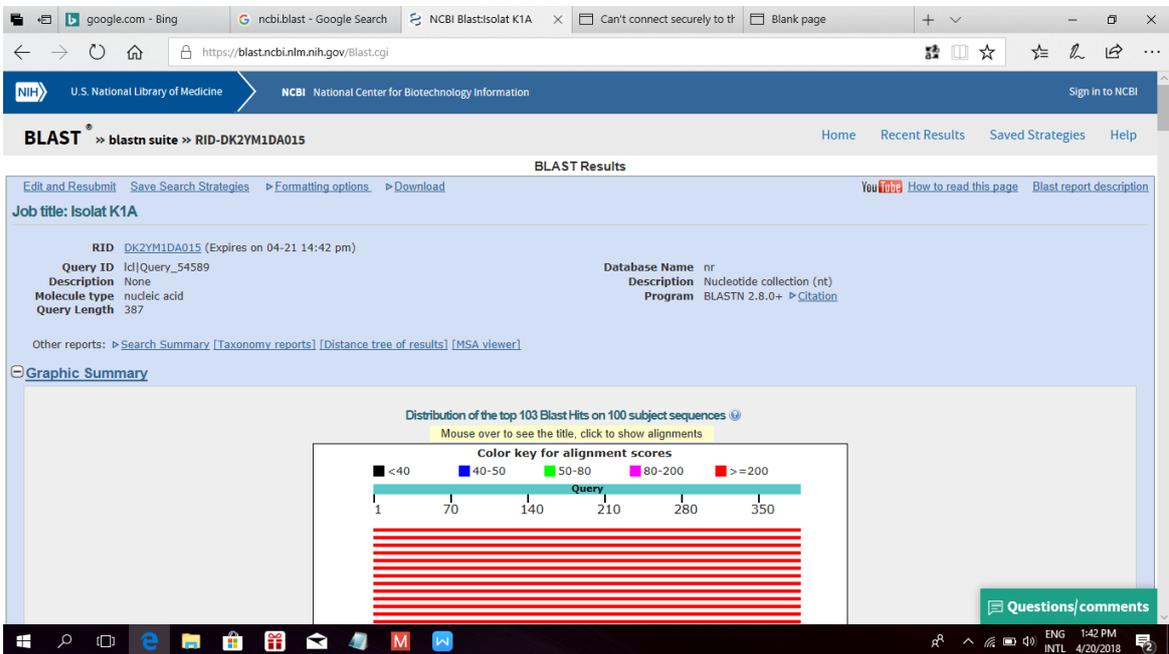
Gambar 6. Kadar etanol sebelum dan setelah fermentasi

5.1b Identifikasi *Khamir indigenous* nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan berdasarkan sekuen ITS.

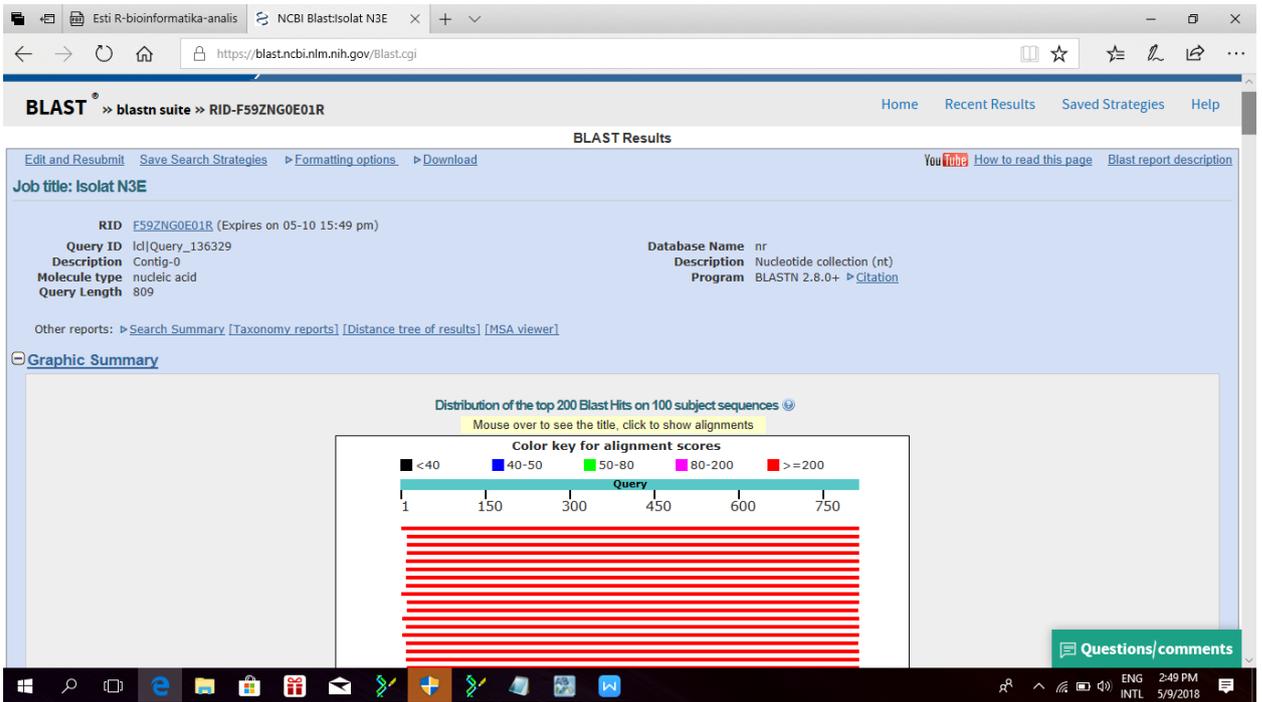
Berdasarkan hasil optimasi produksi bioetanol dari 14 isolat unggul dengan menggunakan media kelapa diperoleh 4 isolat unggul dari masing masing sumber nira, yaitu A3A (dari Aren), K1A (dari kelapa), N3E (dari nipah), dan S1A (dari siwalan). Keempat isolat tersebut kemudiaann dilakukan ekstraksi DNA dengan menggunakan metode Pitcher dkk. (1989) dan menggunakan Kit DNA, kemudiaan hasil ekstraksi DNA dikirim ke Genetika Science untuk dilakukan sequensing. Data hasil sekuensing selanjutnya diolah dengan program Bioedit, Clustalx, dan Njplot. Data yang diperoleh dicari homologinya atau dicocokkan dengan bank data DNA yang ada secara *online* di internet (www.ddbj.nig.ac.jp; www.ncbi.nlm.nih.gov) (Sulistiyani dan Widhyastuti, 2011). Berikut hasil Blast dari ke 4 isolat tersebut.



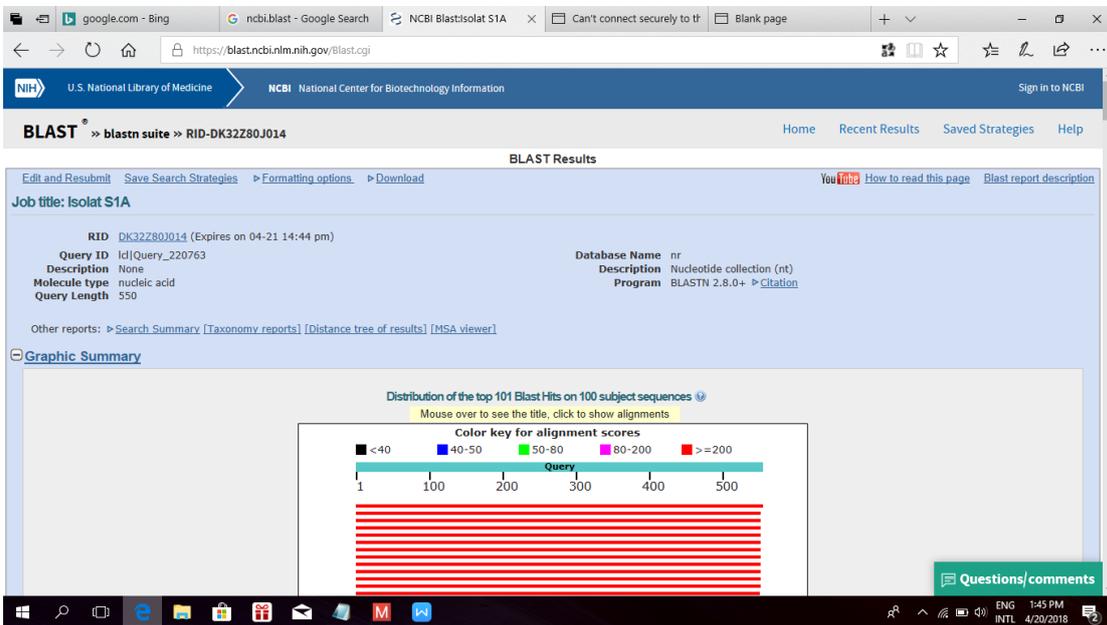
Gambar 7. Hasil Blast isolat A3A



Gambar 8. Hasil Blast isolat K1A



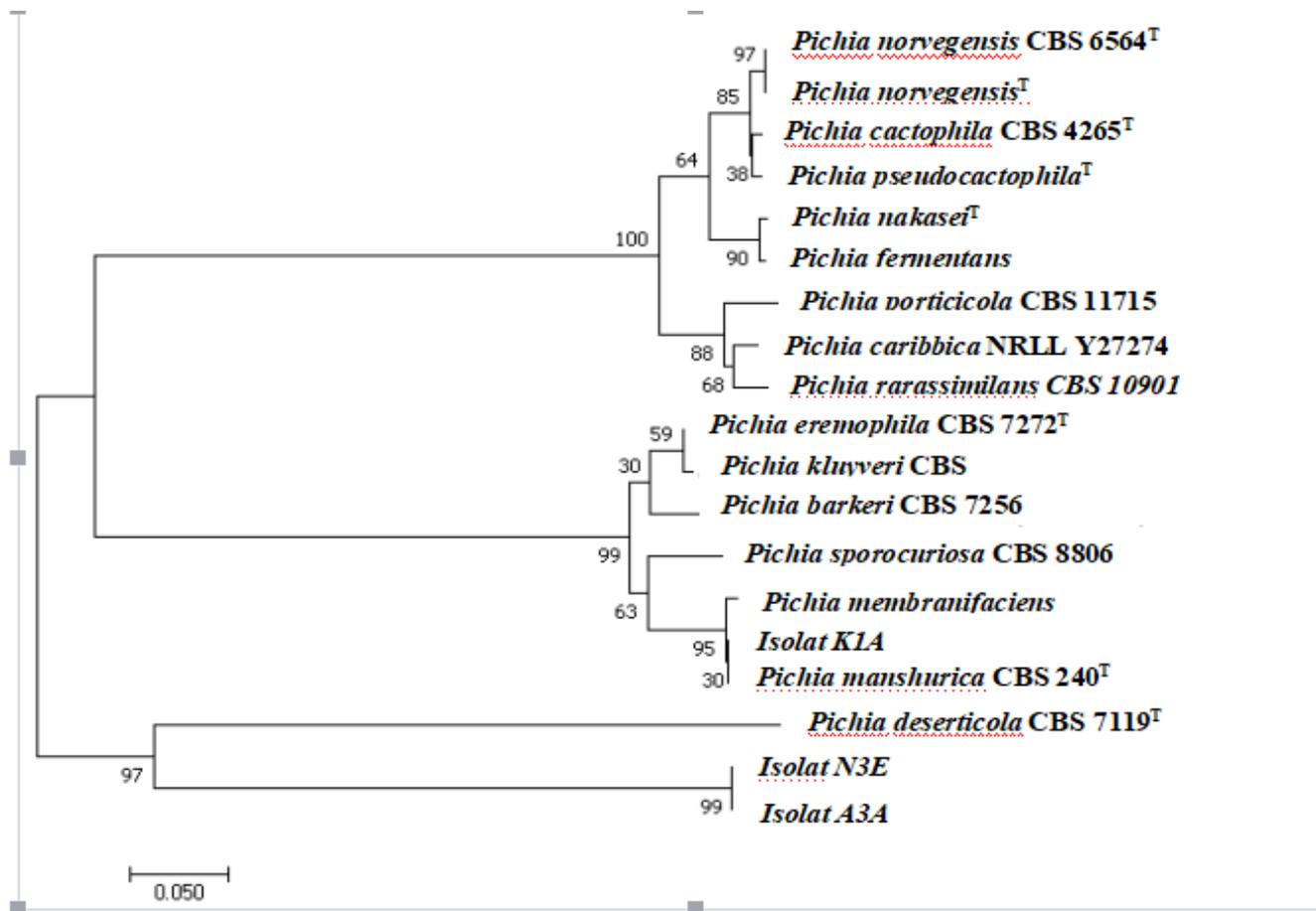
Gambar 9. Hasil Blast isolat N3E



Gambar 10. Hasil Blast isolat S1A

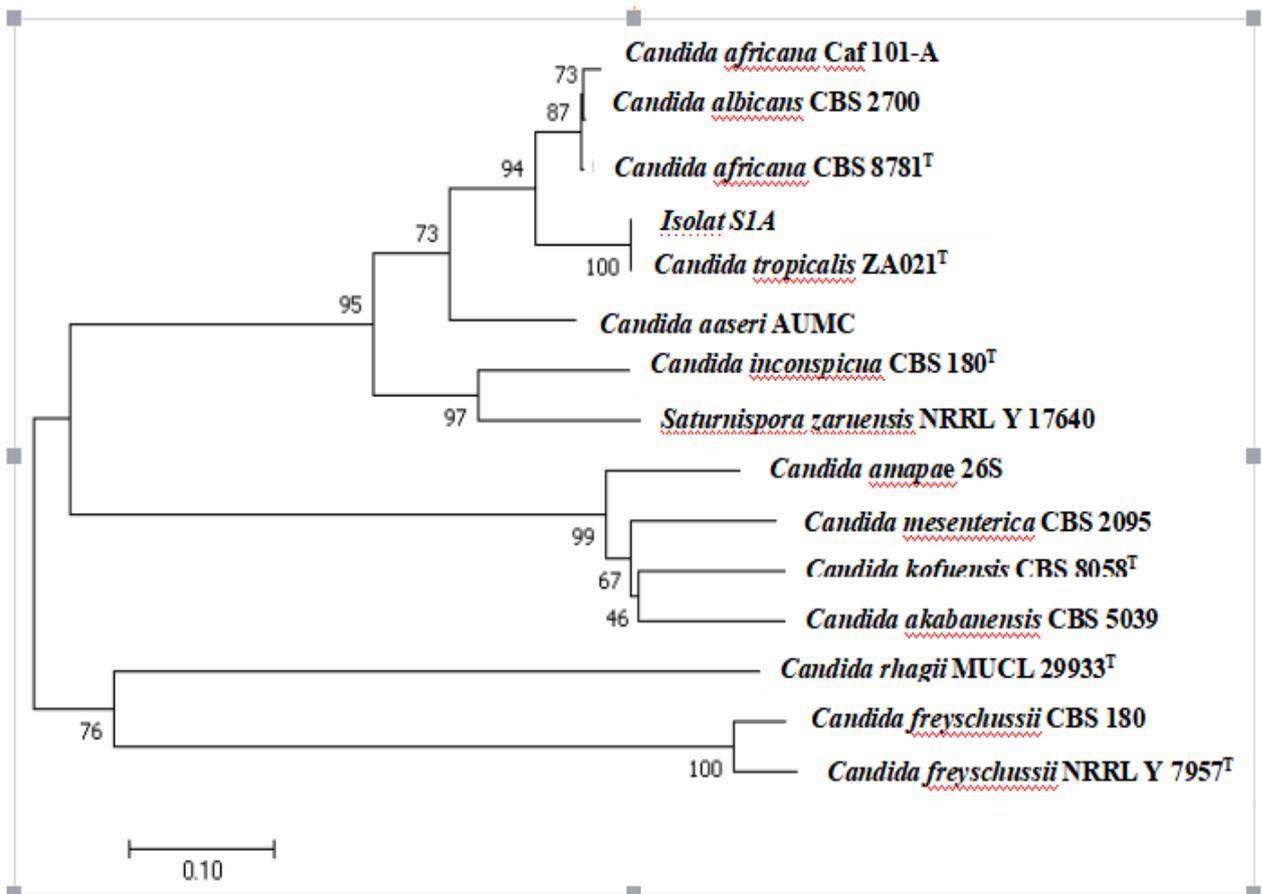
Langkah berikutnya adalah mencocokkan hasil Blast tersebut dengan species yang terdapat pada bank data DNA yang ada secara *online* di internet (www.ddbj.nig.ac.jp; www.ncbi.nlm.nih.gov) (Sulistiyani dan Widhyastuti, 2011)

dan dibuat pohon filogeninya dengan menggunakan program Mega 7 dengan hasil sebagai berikut.



Gambar 11. Pohon Filogeni isolat A3A, K1A, dan N3E

Berdasar Gambar 11 dan 12 terlihat bahwa isolat A3A dan N3E similar dengan *Pichia deserticola* CBS 7119^T, sedangkan isolat K1A similar dengan *Pichia manshurica* CBS 240^T, dan isolat S1A similar dengan *Candida tropicalis* ZA021^T.



Gambar 12. Pohon Filogeni isolat S1A

5.2. Luaran yang dicapai

Luaran yang telah dicapai terdapat pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Luaran yang telah dicapai

No	Jenis Luaran	Indikator Capaian
1	Publikasi Ilmiah pada Jurnal	<i>Accepted</i> naskah publikasi di <i>Gontor Agrotech science Journal</i>
2	Pemakalah dalam pertemuan ilmiah	Diterima sebagai pemakalah pada seminar International Conference on Global Resorces Conservation (ICGRC) 2018
3	Pemakalah dalam pertemuan ilmiah	Diterima sebagai pemakalah pada International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy (ICGAB) 2018

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasar penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil optimasi produksi bioetanol dari 14 isolat unggul yaitu A3A, A11E, A22A, A3B (dari aren), K1A, K1C1, K2C, K21A dengan media air kelapa diperoleh 4 isolat unggul dari masing-masing sumber nira, yaitu A3A (dari Aren), K1A (dari kelapa), N3E (dari nipah), dan S1A (dari siwalan) dengan kadar bioetanol masing-masing 2,71 %, 2,68 %, 2,72 %, dan 3,8 %
2. Hasil identifikasi menggunakan primer ITS 1 dan ITS 4 menunjukkan bahwa A3A dan N3E similar dengan *Pichia deserticola* CBS 7119^T, sedangkan isolat K1A similar dengan *Pichia manshurica* CBS 240^T, dan isolat S1A similar dengan *Candida tropicalis* ZA021^T.

6.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan lagi penelitian selanjutnya untuk mendeteksi gen yang terdapat pada khamir isolat unggul untuk memproduksi bioetanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyani, Chairul, Muria. 2015. Pembuatan Bioetanol dengan Proses Fermentasi Nira Aren Menggunakan *Saccharomyces cereviceae* dengan Variasi pH Awal dan Waktu Fermentasi. *JOM FTEKNIK* 2 (1).
- Atmojo. 2010. *Bioetanol Bahan Bakar Nabati*. <http://theatmojo.com/energi/bioetanol-bahan-bakar-nabati>.
- Blanco, J.M. M. Avalos and I. Orriols. 2012. Effect of must characteristics on the diversity of *Saccharomyces* strains and their prevalence in spontaneous Fermentations. *Journal of Applied Microbiology* 112 (1): 936–944
- Borines, Rizalinda L. de Leon b, Joel L. Cuello. 2013. Bioethanol production from the macroalgae *Sargassum* spp. *Bioresource Technology* 138 (1): 22–29
- Börjesson, P. & Tufvesson, L.M. 2011. Agricultural crop-based biofuels – resource efficiency and environmental performance including direct land use changes. *Journal of Cleaner Production*. 19 (1): 108–120
- Bringezu, S., Ramesohl, S., Arnold, K., Fishedick, M., von Geibler, J., Liedtkeand, C. & Schütz, H. 2007.. Towards a sustainable biomass strategy. What we know and what we should know. *Wuppertal Institute for Climate, Environment and Energy*. 163 (1): 128-130.
- Cassman, K.G. & Liska, A.J. 2007. Food and fuel for all: Realistic or foolish? *Biofuels, Bioproducts, and Biorefining*. 1 (1): 18–23.
- Chairul dan S.R. Yenti. 2013. Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan *Sacharomyces cereviceae*. *Jurnal Teknobiologi*, IV(2): 105 – 108.
- Chinn, M.S., E.E. Nokes, and H.J. Strobel. 2006. Screening of thermophilic anaerobic bacteria for solid substrate cultivation on lignocellulosic substrates. *Biotechnol. Prog.* 22 (1): 53–59.
- David, 2007. Peneliti Pada Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian (Disajikan dalam Workshop Budidaya dan Pemanfaatan Aren untuk Bahan Pangan dan Energi 6 Desember 2007)
- Dahlan., Muhammad H., Sari., Dewi D, Ismadyar. 2009. Pemekatan Nira Nipah Menggunakan Membran Selulosa Asetat. *Jurnal Teknik Kimia Universitas Sriwijaya* : Palembang.
- Dien, B.S., M.A. Cotta, and T.W. Jeffries. 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (1): 258–266.
- Demain, A.L., M. Newcomb, and J.H.D. Wu. 2005. Cellulase, clostridia, and ethanol. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 69(1): 124–154.
- Desai, S.G., M.L. Guerinot, and L.R. Lynd. 2004. Cloning of L-lactate dehydrogenase and elimination of lactic acid production via gene knockout in *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* JW/SL-YS485. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65 (1): 600–605
- Dyanti, 2002. Studi Komparatif Gula Merah Kelapa dan Gula Merah Aren. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, *Institut Pertanian Bogor, Bogor*. 2 (1): 26-40

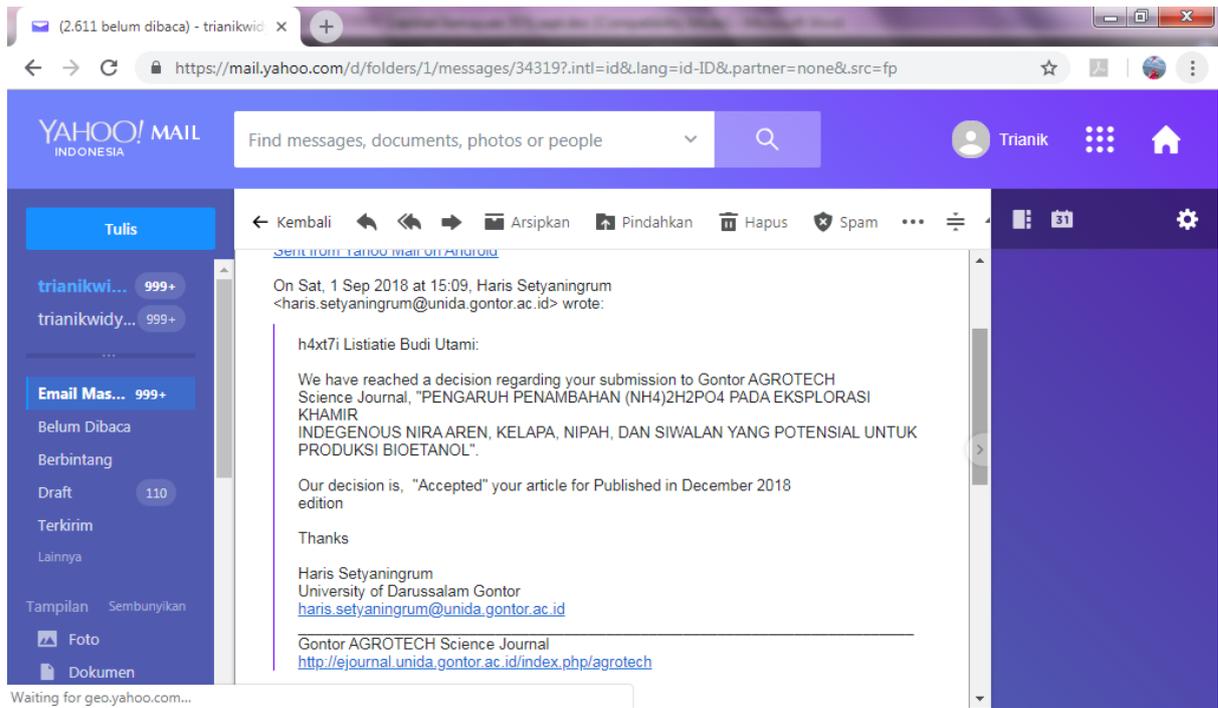
- Goldemberg, J. 2006. The promise of clean energy. *Energy Policy*. 34 (1): 2185–2190.
- Hadi, Thamrin., Moersidik, S.S., Bahry, S. 2013. Karakteristik dan Potensi Bioetanol dari Nira Nipah (*Nypa fruticans*) untuk Penerapan Skala Teknologi Tepat Guna. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 2 (1): 291-293.
- Hepworth, M., 2005, Technical, Environmental and Economic Aspects of Unit Operation for The production of Bioethanol From Sugar Beet in the United Kingdom, CET IIA *Exercise 5* (1), Corpus Christi College.
- Hidayat. N. 2006. **Mikrobiologi Industri**. Edisi Pertama. Yogyakarta
- Ingram, L.O., P.F. Gomez, X. Lai, M. Moniruzzaman, B.E. Wood, L.P. Yomano, and S.W. York. 1999. Metabolic engineering of bacteria for ethanol production. *Biotechnol. Bioeng.* 58 (1): 204–214.
- John, G.S. Anisha, K. Madhavan Nampoothiri, Ashok Pandey. 2011. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresour Technol* 102 (1): 186–193
- Kusumanto. 2010. Mencari Cara Pengawetan Alami Nira Aren Untuk Produksi Gula Organik. <http://kebunaren.blogspot.co.id/2010/02/mencari-cara-pengawetan-alami-nira-aren.html>
- Landry, C.R., Townsend, J.P., Hartl, D.L. and Cavalieri, D. 2006. Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Ecology*. 15 (1): 575–591.
- Naik, S.N., Goud, V.V., Rout, P.K. & Dalai, A.K. 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14 (1): 578–597.
- Naknean & Keawta Jutasukosol & Theerarat Mankit, 2015. Utilization of chitosan as an antimicrobial agent for pasteurized palm sap (*Borassus flabellifer* Linn.) during storage. *J Food Sci Technol* 52(2):731–741 DOI 10.1007/s13197-013-1104-x
- Nikon. 2004. Saccharomyces Yeast Cell: Nikon Microscopy. Phase Contrast Image Gallery. <http://www.microscopyu.com/galleries/phasecontrast/saccharomyces-small.html>
- Pandey, A. Soccol, C.R. Nigam, P. And Soccol, V.T. 2000. Biotechnological potential of agro-industrial residues. Sugarcane bagasse. *Bioresour Technol*. 74 (1): 69-80
- Pitcher, D.G. Saunders, A. and Owen, R.J. 1989. “Rapid Extraction of Bacterial Genomic DNA with Guanidium Thiocyanate”. *J. Applied Microbiology*, 8 (1): 151–156.
- Pennacchia, G. Blaiotta, O. Pepe, and F. Villani. 2008. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different food matrices and their preliminary selection for a potential use as probiotics. *Journal of Applied Microbiology* 23 (1): 234-235.
- Prescott, A.M., and J.P. Harley. 2002. **Microbiology**. McGraw-Hill, New York.
- Riyanti, E.I. 2011. Beberapa Gen Pada Bakteri yang Bertanggung Jawab Terhadap Produksi Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 30(2): 23-25.
- Riyanti, E.I. and P.L. Rogers. 2009. Kinetic evaluation of bioethanol-tolerant thermophile *Geobacillus thermoglucosidasius* M10EXG for ethanol production. *Indones. J. Agric. Sci.* 10(1): 34–41.
- Samsuri, M. M. Gozani, R. Mardias, M. Baiquni, H. Hermansyah, A. Wijanarko, B. Prasetya, dan M. Nasikin. 2007 “Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan

- Steaming pada Produksi Ethanol dari *Bagas* melalui proses Sakarifikasi dan Fermentasi secara Serentak (SSF).” *Makara, Teknologi*, 11(1): 17-24
- Saputra, Ali Ridlo, I. Widowati. 2012. Kajian Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J. G. Agardh sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Journal Of Marine Research*. 1 (2): 145-151
- Sebayang. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase secara Fermentasi menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses* 5 (2):75-80.
- Shafiee, S. & Topal, E. 2009. When will fossil fuel reserves be diminished *Energy Policy*. 37 (1): 181–189.
- Simmons, B.A., Loque, D. & Blanch, H.W. 2008. Next-generation biomass feedstocks for biofuel production. *Genome Biology*. 9 (1): 242-245.
- Stephanopoulos, G. 2007. Challenges in engineering microbes for biofuels production. *Science* 315 (1): 801–804.
- Sulistiyani dan N. Widhyastuti. 2011. Isolasi, Seleksi dan Identifikasi Molekuler Aktinomisetes Penghasil Antibiotik. *Widyariset* 14 (3) : 30-33.
- Tamunaidu, P. and Saka, S. 2011. *Chemical characterization of various parts of nipa palm (Nypa fruticans)*. Department of Socio-Environmental Energy Science, Graduate School of Energy Science, Kyoto University, Yoshida-honmachi, Sakyo-ku 606-8501, Kyoto, Japan. (KURENAI : Kyoto University Research Information Repository)
- Tamunaidu, P. and Saka, S. 2013. Comparative Study of Nutrient Supplements and Natural Inorganic Components in Ethanolic Fermentation of *Nipa Sap*. *Journal of the Japan Institute of Energy*. 92 (1): 181 - 186.
- Vries, S.C.d., Ven, G.W.J.v.d., Ittersum, M.K.V. & Giller, K.E. 2010. Resource use efficiency and environmental performance of nine major biofuel crops, processed by firstgeneration conversion techniques. *Biomass and Bioenergy*. 34 (1):588 – 601.
- Wardani dan F. N. E. Pertiwi. 2013. Produksi Etanol Dari Tetes Tebu Oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk Flok (Nrrl – Y 265). *Agritech*, 33(2): 131-139
- Wijaya dan I G. K. A. Arthawan. 2012. Potensi Nira Kelapa Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Bumi Lestari*, 12(1): 85 – 92.
- Zaldivar, J., J. Nielsen, and L. Olsson. 2001. Fuel ethanol production from lignocellulose: A challenge for metabolic engineering and process integration. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 56: 17–34.
- Zhang, M., C. Eddy, K. Deanda, M. Finkelstein, and S. Picataggio. 1995. Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic *Zymomonas mobilis*. *Science* 267: 240–243.

LAMP IRAN

Lampiran 1. Bukti Luaran yang Dihasilkan

Lampiran 1a. Bukti *Accepted* di *Gontor Agrotech Science Journal*



PENGARUH $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ PADA EKSPLORASI KHAMIR INDEGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH, DAN SIWALAN YANG POTENSIAL UNTUK PRODUKSI BIOETANOL

EFFECTS OF $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ IN EXPLORATION INDEGENOUS YEAST OF AREN, COCONUT, NIPAH, AND SIWALAN NIRA THAT POTENTIAL FOR BIOETANOL PRODUCTION

Trianik Widyaningrum¹ dan Listiatie Budi Utami²

1). Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Ahmad Dahlan

2). Program Studi Biologi Universitas Ahmad Dahlan

Abstrak:

Sumber energi utama pada umumnya berasal dari energi fosil yang semakin lama semakin langka ketersediaannya. Berdasarkan hal ini perlu dikembangkan berbagai energi alternatif yang dapat diperbaharui, ramah lingkungan, dan berkelanjutan salah satunya adalah bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ pada eksplorasi khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang potensial untuk produksi etanol. Penelitian ini diawali dengan sampling nira aren dan kelapa serta nira nipah dan nira siwalan. Langkah berikutnya adalah skrining khamir penghasil etanol dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ pada Nira meliputi pH, kadar gula reduksi dengan menggunakan metode DNS, waktu fermentasi (0, 2,4,6) hari, dan jumlah sel. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kondisi awal nira, yaitu pH nira aren 4,9 kelapa 3,7, nipah 4,3, dan siwalan 4,7, kemudian gula reduksi nira aren 13,41 mg/mL, kelapa 17,09 mg/mL, nipah 33,38 mg/mL, dan siwalan 43,35 mg/mL, kadar etanol nira aren 1,53%, kelapa 4,4 %, nipah 0,3%, dan siwalan 0,23%. Berdasarkan data tersebut terlihat kadar etanol tertinggi pada nira kelapa, sehingga skrining berikutnya dengan menggunakan nira kelapa dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$. Berdasarkan isolasi khamir dari keempat Nira diperoleh isolat sejumlah 48. Berdasarkan skrining yang dilakukan dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ dan memperhatikan pH nira, waktu fermentasi, gula reduksi, dan jumlah sel diperoleh isolat yang unggul untuk produksi etanol sejumlah 18 isolat dengan waktu fermentasi 4 dan 6 hari.

Kata Kunci: Eksplorasi, Nira, isolat unggul, bioetanol.

The main source of energy comes from fossil fuels that are becoming increasingly rare. Based on this need to develop a variety of alternative energy that can be updated, environmental friendly, and sustainable one of them is bioethanol. This study aims to determine the effect of addition $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ on the exploration of indegenous yeast palm, coconut, nipah, and siwalan potential for ethanol production. This research begins with sampling palm juice and coconut as well as palm and siwalan nira. The next step is the screening of ethanol-producing yeast with the addition of $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ to Nira including pH, reducing sugar content by DNS method, fermentation time (0, 2,4,6) days, and cell count. Based on the results of the study, the initial condition of palm juice, namely pH palm sugar palm 4.9, 3.7, palm 4.3, and siwalan 4.7, then sugar palm sugar reduction 13.41 mg / mL, coconut 17.09 mg / mL, nipah 33.38 mg / mL, and siwalan 43.35 mg / mL, ethanol level of palm sugar palm 1.53%, coconut 4.4%, nipah 0.3%, and siwalan 0.23%. Based on these data, the highest ethanol content in coconut palm, so the next screening using coconut juice with the addition of $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$. Based on the isolation of yeasts from the four NIRAs, 48 isolates were obtained. Based on screening performed by addition $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ and taking into account the pH of nira, fermentation time, reducing sugar, and cell number were obtained superior isolates for ethanol production of 18 isolates with fermentation time 4 and 6 days.

Keywords: Exploration, nira, superior isolates bioethanol

I. PENDAHULUAN

Bahan bakar fosil, terutama minyak bumi, batu bara, dan gas alam, merupakan sumber energi utama bagi sebagian besar industri dan masih merupakan bahan baku yang paling penting untuk menghasilkan energi di dunia. Saat ini, nilai pasar energi dunia sekitar 1,5 triliun dolar didominasi oleh bahan bakar fosil (Goldemberg, 2006). Namun, sumber-sumber ini tidak lagi dianggap berkelanjutan, dan ketersediaannya jauh lebih sedikit. Shafiee dan Topal (2009) meramalkan bahwa minyak, batubara, dan gas hanya akan tersisa secara berurutan sekitar 35, 107, dan 37 tahun. Selain itu bahan bakar tersebut menimbulkan dampak lingkungan seperti pemanasan global akibat emisi gas rumah kaca (Naik dkk., 2010). Oleh karena itu, diperlukan sumber energi terbarukan, berkelanjutan, dan ramah lingkungan antara lain bioetanol.

Penelitian produksi bioetanol melalui fermentasi telah banyak dipublikasikan di luar negeri dengan menggunakan berbagai strain mikroorganisme, seperti bakteri, khamir, dan jamur dengan sumber karbon yang berbeda (Dien dkk., 2003; Desai

dkk., 2004; Demain dkk., 2005; Chinn dkk., 2006; Stephanopoulos 2007; Riyanti dan Rogers, 2009). Bioetanol umumnya diproduksi dengan bantuan mikroorganisme jenis khamir dengan sumber karbon gula sederhana dari tetes tebu (molase), jagung atau tebu (Riyanti, 2011).

Penelitian tentang produksi etanol dengan berbagai macam bahan baku (molase, nira kelapa, nira nipah, mikro dan makroalga, *Sargassum*) sudah dilakukan (Sebayang, 2006; Wardani dan Pertiwi, 2013; Wijaya dan Arthawan, 2012); Chairul dan Yenti, 2013; Hadi dkk., 2013). Selain tetes tebu (molase), bahan baku lain yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber etanol adalah Nira. Nira merupakan cairan manis mengandung gula pada konsentrasi 7,5 sampai 20,0 % yang terdapat di dalam bunga tanaman aren, kelapa, dan lontar yang pucuknya belum membuka dan diperoleh dengan cara penyadapan (Dyanti, 2002). Nira aren mengandung air 87,66 %, gula 12,04 %, protein 0,36 %, serta lemak dan abu masing-masing 0,36 % dan 0,21 % (Hasbullah, 2001).

Berdasarkan penelitian-penelitian yang sudah dilakukan berkaitan dengan nira,

molase, dan algae sebagai bahan pembuatan etanol dengan memanfaatkan *Saccharomyces cerevisiae*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengeksplorasi

2. Metode Penelitian

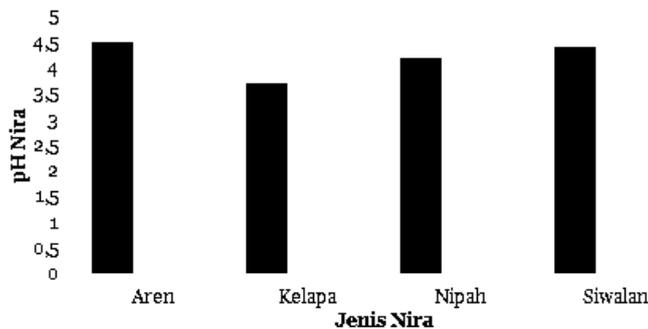
Penelitian ini diawali dengan sampling nira aren dan kelapa yang diperoleh dari Desa Pagerharjo Samigaluh Kabupaten Kulon Progo yang dilakukan pada 20 Desember 2016 serta nira nipah dari Desa Ujung Manik Kecamatan Kawungan Cilacap yang dilakukan pada 25 Desember 2016, dan nira siwalan yang diperoleh dari Desa Landoh, Rembang yang dilakukan pada 27 Desember 2017. Selanjutnya dilakukan isolasi khamir dari keempat sumber nira tersebut berdasarkan Heard dan Armada, (1986) dalam Blanco

khamir indogenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ yang potensial dalam memproduksi bioetanol.

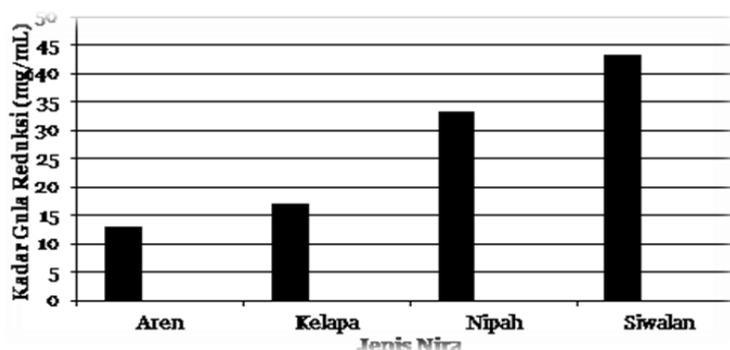
dkk., (2012). Langkah berikutnya adalah skrining khamir penghasil etanol dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ pada Nira meliputi pH, kadar gula reduksi dengan menggunakan metode DNS, waktu fermentasi (0, 2,4,6) hari, dan jumlah sel spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan acak kelompok. Data dianalisis dengan Anava dan DMRT.

3. Hasil dan Pembahasan

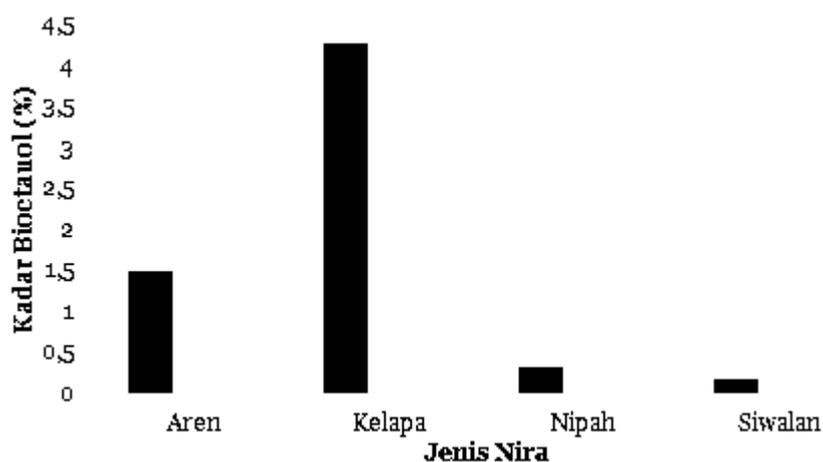
Berdasar sampling nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan dihasilkan kondisi awal Nira tersebut seperti pada Gambar 1,2, dan 3 berikut



Gambar 1. Derajat Keasaman Nira



Gambar 2. Kadar gula reduksi nira



Gambar 3. Kadar Bioetanol nira

Berdasar hasil pengujian awal nira terlihat kadar bioetanol tertinggi pada nira kelapa, kemudian langkah selanjutnya dilakukan skrining untuk mendapatkan isolat yang produktif dalam produksi bioetanol dengan menggunakan

nira kelapa dan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ dengan tujuan untuk menambah kandungan N sebagai sumber hara bagi pertumbuhan khamir. Berdasar skrining tersebut diperoleh data seperti pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hubungan jenis isolat dan waktu fermentasi terhadap rata-rata kadar gula reduksi, pH kadar bioetanol, dan jumlah sel.

NO	NAMA ISOLAT	WAKTU FERMENTASI (HARI)	Rata-rata			
			Rata-rata Kadar gula (mg/mL)	pH	rata-rata Kadar Etanol (%)	rata-rata Jumlah Sel
1	N3D	0	64,36	4,84	1,18	2559,98
		2	45,02	4,72	2,44	3108,03
		4	44,81	4,38	10,44	4613,19
		6	44,39	4,41	11,97	4926,93
2	N3E	0	57,36	4,78	1,4	23821,40
		2	57,74	4,38	6,5	29837,13
		4	55,78	4,33	10,44	36196,04
		6	41,81	4,34	12	37447,63
3	N1A	0	63,81	4,65	1,1	37565,52
		2	59,32	4,38	7	54587,72
		4	59,53	4,33	10,08	60610,96

		6	55,78	4,37	11,52	66470,52
4	N3B	0	62,47	4,64	1,2	8318,27
		2	53,94	4,25	2,4	10448,91
		4	45,94	4,31	4,72	11663,71
		6	46,60	4,27	12,16	11720,65
5	A3B	0	62,30	4,76	1,12	30158,42
		2	57,82	4,31	6,4	37602,56
		4	45,89	4,39	10,8	45069,26
		6	43,23	4,37	11,78	45069,26
6	A11E	0	62,08	4,74	1,12	3603,69
		2	56,49	4,42	7	4148,90
		4	50,69	4,33	10,08	4620,97
		6	44,60	4,34	11,78	5150,67
7	A3A	0	62,08	4,54	1,12	3050,55
		2	62,07	4,16	8,12	3975,01
		4	53,98	4,27	10,62	4350,46
		6	51,98	4,26	10,62	4401,82
8	A22A	0	55,24	4,56	1,22	2635,83
		2	51,27	4,39	6	3194,76
		4	47,15	4,2	9,88	3774,54
		6	49,11	4,29	12	4030,32
9	A11B	0	53,52	4,76	1,12	15530,49
		2	52,40	4,44	6,9	26589,43
		4	43,35	4,39	10,08	38540,22
		6	58,03	4,39	10,97	41215,77
10	K3D	0	62,30	4,39	2,75	102334,74
		2	61,87	4,11	7,08	149841,54
		4	45,56	4,21	8,12	167339,88
		6	43,77	4,2	10,98	177791,38
11	K21A	0	52,57	4,7	1,12	18222,71
		2	51,90	4,35	7,08	22553,42
		4	43,31	4,54	10	28491,86
		6	39,85	4,36	12,9	28593,25
12	K1C1	0	62,13	4,77	1,12	34767,74
		2	56,82	4,6	4,8	38904,91
		4	49,86	4,34	10,29	52526,61
		6	49,19	4,45	11,34	55425,44
13	K2C	0	62,14	4,74	1,18	6535,91
		2	56,15	4,42	2,32	8088,77
		4	47,06	4,42	12,07	9946,01
		6	47,40	4,49	13,02	10018,23
14	K1A	0	54,58	4,8	1,24	4470,41
		2	49,77	4,56	4,96	5571,38
		4	43,93	4,43	11,8	7833,72
		6	35,59	4,49	12,81	8800,42

15	S3D	0	53,85	4,78	1,2	253737,50
		2	50,40	4,54	6,96	290217,52
		4	43,18	4,46	10,62	359014,09
		6	44,56	4,46	10,62	378047,15
16	S1A	0	55,35	4,83	1,16	7668,37
		2	49,86	4,59	2,85	8382,48
		4	46,31	4,39	11,8	10278,58
		6	43,85	4,46	13	10545,34
17	S2D	0	61,22	4,48	1,12	7183,46
		2	56,57	4,24	2,36	9563,84
		4	48,27	4,29	8,4	10214,24
		6	48,65	4,34	9,27	11090,29
18	S1C	0	52,63	4,79	1,2	37759,40
		2	47,69	4,7	2,24	44607,51
		4	43,52	4,45	10,26	59345,84
		6	44,60	4,45	10,98	62695,46

Keterangan: A isolat dari nira Aren
K isolat dari nira kelapa
N isolat dari nira Nipah
S isolat dari nira siwalan
1, 2 A, B, C, D kode isolat

Setelah dilakukan uji statistik menunjukkan bahwa berdasar perlakuan lama fermentasi yang menghasilkan kadar bioetanol tertinggi adalah waktu fermentasi 6 hari, sedangkan berdasar kadar bioetanol hasil fermentasi pada hari ke 6 menunjukkan ke 18 isolat menghasilkan kadar bioetanol berkisar 9,27 - 13,02 %, dan berdasarkan uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antara jenis isolat terhadap kadar bioetanol, meskipun berdasarkan pengukuran kadar bioetanol menunjukkan isolat K2C menghasilkan kadar bioetanol tertinggi yaitu 13,02 (isolat dari nira kelapa).

Berdasar Tabel 2 terlihat pada hari ke 6 kadar bioetanol didapatkan semakin meningkat. Hal tersebut disebabkan karena pada hari ke 6 merupakan fase eksponensial yaitu mikrobial akan tumbuh dengan laju pertumbuhan yang sangat tinggi sehingga peningkatan jumlah sel terjadi secara eksponensial atau logaritmik (Yuwono, 2005). Berdasarkan Tabel 2 tersebut terlihat bahwa kadar bioetanol tertinggi terdapat pada Isolat K2C yaitu sebesar 13,02 %, fase ini masih pada fase eksponensial dikarenakan kadar bioetanol masih mengalami kenaikan, hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Desrosier (2008)

bahwa untuk menghasilkan kadar bioetanol yang optimal melalui fermentasi, waktu yang dibutuhkan adalah 3-6 hari.

Berdasar Tabel 2 setelah dilakukan proses fermentasi kondisi pH mulai menurun. Pada fermentasi hari ke 6 menunjukkan pH mengalami penurunan, meskipun tidak signifikan hal ini sesuai dengan pendapat Azizah (2012), bahwa pertumbuhan mikroba optimal pada kondisi pH kisaran antara 3,5-6,5 sedangkan pada kondisi basa tidak akan tumbuh. Lingkungan yang terlalu asam atau basa membuat mikroorganisme sulit untuk beradaptasi. Selama fermentasi perubahan pH dapat disebabkan oleh hasil fermentasi yang merupakan asam atau basa yang dihasilkan selama pertumbuhan mikroorganisme dan komponen organik dalam medium (Keenan dkk, (1990) dalam (Rahmawati, 2010)). Kecenderungan media fermentasi semakin asam disebabkan amonia yang digunakan sel khamir sebagai sumber nitrogen diubah menjadi NH_4^+ . Molekul NH_4^+ akan menggabungkan diri ke dalam sel sebagai R-NH_3 . Dalam proses ini H^+ ditinggalkan dalam media, sehingga semakin lama waktu fermentasi semakin rendah pH media

(Judoamidjojo dkk, (1989) dalam (Rahmawati, 2010)).

Waktu fermentasi yang semakin lama menunjukkan kadar gula reduksi yang menurun tetapi kadar bioetanolnya semakin meningkat (Tabel 2), hal tersebut disebabkan karena gula tersebut diubah menjadi bioetanol oleh khamir. Berdasar jumlah sel terlihat semakin lama waktu fermentasi jumlah sel semakin meningkat, hal tersebut menunjukkan bahwa sel khamir dapat tumbuh dengan baik pada kondisi pH berkisar 4 (asam) dan dengan penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ terlihat khamir dapat mengalami pertumbuhan dengan baik akibat tersedianya unsur N dalam media nira kelapa.

4. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terlihat bahwa nira aren, kelapa, nipah dan siwalan terdapat khamir indigenous yang dapat memproduksi bioetanol. Isolat yang unggul untuk produksi etanol sejumlah 10 isolat, yaitu A11E, A3A (dari Aren), K1C1, K2C, K1A (dari Kelapa), N3D, N3E, N1A (dari Nipah), dan S1A, S2D (dari Siwalan). dengan waktu fermentasi 4 dan 6 hari.

Saran yang dapat disampaikan berdasar hasil penelitian yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk

mengetahui jenis khamir indigenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang selanjutnya dapat diketahui hubungan kekerabatan dari isolat-isolat tersebut untuk selanjutnya digunakan dalam produksi bioetanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, N., Dkk. 2012. "Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, Ph, Dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substansi Kulit Nanas". Semarang: UNDIP. *Jurnal Penelitian Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. 1, No. 2, 2012: 72-73
- Blanco, J.M. M. Avalos and I. Orriols. 2012. Effect of must characteristics on the diversity of *Saccharomyces* strains and their prevalence in spontaneous fermentations. *Journal of Applied Microbiology* 112 (1): 936–944
- Chairul dan S.R. Yenti. 2013. Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan *Sacharomyces cereviceae*. *Jurnal Teknobiologi*, IV(2): 105 – 108.
- Chinn, M.S., E.E. Nokes, and H.J. Strobel. 2006. Screening of thermophilic anaerobic bacteria for solid substrate cultivation on lignocellulosic substrates. *Biotechnol. Prog.* 22 (1): 53–59.
- Dien, B.S., M.A. Cotta, and T.W. Jeffries. 2003. Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63 (1): 258–266.
- Demain, A.L., M. Newcomb, and J.H.D. Wu. 2005. Cellulase, clostridia, and ethanol. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 69(1): 124–154.
- Desai, S.G., M.L. Guerinot, and L.R. Lynd. 2004. Cloning of L-lactate dehydrogenase and elimination of lactic acid production via gene knockout in *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* JW/SL-YS485. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*
- Desrosier, Norman W., 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Dyanti, 2002. Studi Komparatif Gula Merah Kelapa dan Gula Merah Aren. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, *Institut Pertanian Bogor, Bogor*. 2 (1): 26-40
- Goldemberg, J. 2006. The promise of clean energy. *Energy Policy*. 34 (1): 2185–2190.
- Hadi, Thamrin., Moersidik, S.S., Bahry, S. 2013. Karakteristik dan Potensi Bioetanol dari Nira Nipah (*Nypa fruticans*) untuk Penerapan Skala Teknologi Tepat Guna. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 2 (1): 291-293.
- Hasbullah. 2001. *Teknologi Tepat Guna Agroindustri Kecil Sumatera Barat*. Padang. Dewan Ilmu Pengetahuan, Teknologi dan Industri Sumatera Barat.
- Naik, S.N., Goud, V.V., Rout, P.K. & Dalai, A.K. 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14 (1): 578–597.
- Rahmawati, A. 2010. "Pemanfaatan Limbah Kulit Ubi Kayu (*Manihot utilissima* Pohl.) dan Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.) Pada Produksi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger*". *Skripsi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNS*
- Riyanti, E.I. 2011. Beberapa Gen Pada Bakteri yang Bertanggung Jawab Terhadap Produksi

- Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 30(2): 23-25.
- Riyanti, E.I. and P.L. Rogers. 2009. Kinetic evaluation of bioethanol-tolerant thermophile *Geobacillus thermoglucosidasius* M10EXG for ethanol production. *Indones.J. Agric. Sci.* 10(1): 34-41.
- Saputra, Ali Ridlo, I. Widowati. 2012. Kajian Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J. G. Agardh sebagai Penghasil Bioetanol dengan Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi. *Journal Of Marine Research*. 1 (2): 145-151
- Sebayang. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase secara Fermentasi menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Terimobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses* 5 (2):75-80.
- Shafiee, S. & Topal, E. 2009. When will fossil fuel reserves be diminished *Energy Policy*. 37 (1): 181-189.
- Stephanopoulos, G. 2007. Challenges in engineering microbes for biofuels production. *Science* 315 (1): 801-804.
- Wardani dan F. N.E. Pertiwi. 2013. Produksi Etanol Dari Tetes Tebu Oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk Flok (Nrrl – Y 265). *Agritech*, 33(2): 131-139
- Wijaya dan I G. K. A. Arthawan. 2012. Potensi Nira Kelapa Sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Bumi Lestari*, 12(1): 85 – 92.
- Yuwono, Triwibowo, 2006. *Fisiologi Mikrobia*. Yogyakarta : Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

Lampiran 1.c. Sebagai Pemakalah dalam International Conference on Global Resource Conservation (ICGRC)



Lampiran 1.d. Sebagai pemakalah dalam International Conference on Green Agro-Industry and Bioeconomy



Lampiran 1.e. Draf Paten

Deskripsi

KHAMIR INDEGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH, DAN SIWALAN YANG POTENSIAL UNTUK PRODUKSI BIOETANOL

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berkaitan dengan eksplorasi khamir indegenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Lebih khusus invensi ini berupa eksplorasi khamir indegenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang potensial untuk produksi bioetanol. Khamir ini nantinya akan digunakan untuk produksi bioetanol dengan menggunakan bahan-bahan limbah, misalnya dengan memanfaatkan air kelapa.

Latar Belakang Invensi

Nira merupakan cairan manis mengandung gula pada konsentrasi 7,5 sampai 20,0 % yang terdapat di dalam bunga tanaman aren, kelapa dan siwalan yang pucuknya belum membuka dan diperoleh dengan cara penyadapan. Air dalam nira merupakan bagian yang terbanyak yaitu antara 75 - 90 %, sukrosa terbanyak berkisar 12,30 - 17,40 %, gula reduksi antara 0,50 - 1,00 %, dan sisanya merupakan senyawa organik serta anorganik. (Kusumanto, 2010).

Negara Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan hasil pertanian, salah satunya adalah tanaman komoditi penghasil perkebunan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Salah satu komoditi tersebut adalah Nira. Nira adalah cairan yang disadap dari pohon

Keluarga Palma, misalnya pohon aren, nipah, kelapa, dan siwalan.

Aren adalah salah satu keluarga palma yang serbaguna, dapat tumbuh pada ketinggian 0-1.500 meter di atas permukaan laut. Hampir semua bagian tanaman aren berguna bagi manusia, baik untuk pangan maupun bahan baku industri dan energi terbarukan. Setiap pohon aren rata-rata menghasilkan 15 Liter nira/hari dengan rendemen gula sekitar 12 % yang dapat disadap terus-menerus selama 3 - 5 tahun. Kemampuan petani menyadap aren rata-rata 15 pohon/orang/hari sehingga setiap petani dapat menghasilkan nira rata-rata 225 Liter/hari yang dapat menghasilkan etanol berkadar 80 % sekitar 19 Liter/hari atau 570 Liter/bulan. Secara teoritis potensi aren sebagai penghasil gula lebih tinggi dibandingkan tebu per satuan luas lahan (David, 2007).

Tanaman kelapa sebagai tanaman penghasil bahan bakar nabati, potensinya lebih baik dibandingkan jenis tanaman perkebunan lainnya. Indonesia dan Filipina adalah dua produsen kelapa terbesar di dunia dengan luas area masing-masing 3,7 juta ha dan 3,1 juta ha. Potensi produksi nira kelapa adalah 360.000 s/d 720.000 liter/tahun/ha. Nira kelapa memiliki sifat sangat cepat terfermentasi sehingga kurang menguntungkan untuk diolah menjadi gula merah. Kondisi ini menambah besarnya kesempatan pemanfaatan nira kelapa untuk keperluan lain yaitu sebagai sumber BBN (Bahan Bakar Nabati) (Prastowo, 2007 dalam Wijaya & Arthawana, 2012).

Nipah adalah sejenis palem (palma) yang tumbuh di lingkungan hutan bakau atau daerah pasang-surut air laut. Salah satu alternatif pemanfaatan tanaman nipah adalah sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Total Komposisi kimia nira nipah adalah 19,5 % berat, terutama terdiri dari sukrosa, glukosa dan fruktosa (Tamunaidu & Saka, 2013). Tamunaidu & Saka (2013) juga menginformasikan bahwa potensi pohon nipah dapat menghasilkan 0,4 sampai 1,2 L nira nipah per pohon per hari. Menurut Dahlan dkk. (2009) nira nipah mengandung sukrosa sebanyak 13-17 %, ini merupakan suatu bahan yang sangat potensial untuk diolah menjadi bioetanol.

Siwalan dapat ditemukan di negara-negara tropis seperti Thailand, Malaysia, Indonesia, India, Myanmar, Sri Lanka, dan Kamboja. Bagian yang paling penting produk pohon siwalan adalah getah (nira). Proses penyadapan nira siwalan dengan melukai bagian bunga, sehingga merangsang aliran nira. Nira siwalan kaya gula (10-17 %), sehingga cepat terjadi fermentasi dan terjadi konversi menjadi asam dan etanol (Naknean dkk., 2015).

Berdasar kandungan gula yang tinggi dalam nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan tersebut diharapkan dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bioetanol yang diawali dengan isolasi khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Setelah diperoleh khamir indegenous kemudian khamir tersebut dimanfaatkan untuk produksi bioetanol dengan memanfaatkan bahan limbah misalnya air kelapa.

Hal tersebut dilaksanakan berdasarkan perkembangan kebutuhan energi yang semakin banyak, sementara energi dari fosil terbatas ketersediannya, sehingga diperlukan sumber energi terbarukan, berkelanjutan, dan ramah lingkungan, antara lain dengan memanfaatkan bioetanol.

Keuntungan mendasar dari eksplorasi khamir indegenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan tersebut adalah khamir tersebut produktif sebagai mikrobia yang dapat mengubah limbah yang mengandung glukosa menjadi bioetanol yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi yang ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Penelitian tentang produksi etanol dengan berbagai macam bahan baku sudah dilakukan yaitu oleh Sebayang (2006), Wardani dan Pertiwi (2013) menggunakan molase, Wijaya dan Arthawan (2012) menggunakan nira kelapa, Chairul dan Yenti (2013) serta Hadi dkk. (2013) menggunakan nira nipah.

Hal yang baru dari invensi ini yaitu pemanfaatan khamir indegenous dari nira aren, kelapa, nipah dan siwalan yang selanjutnya digunakan untuk produksi bioetanol dengan memanfaatkan bahan limbah. Diharapkan hasil dari invensi ini diperoleh sumber energi alternatif yang berkelanjutan dan ramah lingkungan dengan memanfaatkan bahan limbah yang mengandung gula.

Menimbang hal tersebut di atas, maka tujuan invensi ini adalah menyediakan khamir indegenous dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan untuk produksi bioetanol dengan memanfaatkan limbah yang mengandung gula.

Uraian Ringkas Invensi

Sesuai invensi ini disediakan khamir indegenous dari nira aren, kelapa, nipah dan siwalan yang potensiaaal untuk produksi bioetanol.

Uraian Lengkap Invensi

Invensi ini berkaitan dengan eksplorasi khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang produktif untuk produksi bioetanol.

Proses eksplorasi diawali dengan isolasi khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Kemudian dilakukan skreening berdasarkan pH media, kadar gula reduksi, waktu fermentasi, jumlah sel, dan kadar bioetanol.

Berdasar hasil isolasi diperoleh 48 isolat. Dari 48 isolat setelah dilakukan skreening diperoleh 7 isolat unggul untuk produksi bioetanol, yaitu A3A (isolat dari nira aren), K1A, K1C1, K2C (isolat dari nira kelapa), N3E (isolat dari nira nipah), S1A, S2D (isolat dari nira siwalan) dan dengan waktu fermentasi 6 hari. Dari ke 7 isolat tersebut menghasilkan kadar bioetanol dengan kisaran 12,6% sampai 16%.

Klaim

1. Isolat Khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang produktif untuk produksi bioetanol.
2. Proses skreening khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan dengan menggunakan pH, kadar gula reduksi, waktu fermentasi (0,2,4,6 hari) jumlah sel, dan kadar bioetanol.

Abstrak

KHAMIR INDEGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH, DAN SIWALAN YANG POTENSIAL UNTUK PRODUKSI BIOETANOL

Invensi ini berkaitan dengan khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan yang potensial untuk produksi bioetanol. Invensi ini menggunakan langkah isolasi khamir dan skreening khamir yang potensial untuk produksi etanol dengan melihat pH media, kandungan gula reduksi dengan metode DNS, waktu fermentasi, jumlah sel, dan kadar bioetanol.

Tujuan dalam invensi ini adalah diperoleh khamir indegenous yang potensial untuk produksi bioetanol.

Proses invensi diawali dengan isolasi isolat khamir indegenous nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan, kemudian dilakukan skreening isolat yang potensial untuk produksi bioetanol dengan melihat pH media, kadar gula reduksi, jumlah sel, waktu fermentasi (0,2,4,6) hari, dan kadar bioetanol.

Berdasar hasil skreening diperoleh 7 isolat unggul untuk produksi bioetanol, yaitu A3A (isolat dari nira aren), K1A, K1C1, K2C (isolat dari nira kelapa), N3E (isolat dari nira nipah), S1A, S2D (isolat dari nira siwalan) dan dengan waktu fermentasi 6 hari. Dari ke 7 isolat tersebut menghasilkan kadar bioetanol dengan kisaran 12,6% sampai 16%.

Lampiran 2. Surat Pernyataan dan BAST



FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Jalan Pramuka No. 42 Sidikan Yogyakarta 55161
Telp. (0274) 563515, 511830, 371120 Fax. (0274) 564604

SURAT PERNYATAAN
LAPORAN AKHIR PELAKSANAAN HIBAH PENELITIAN
STRATEGIS NASIONAL INSTITUSI ANGGARAN 2018

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : Trianik Widyaningrum, M.Si
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI)
Judul : Identifikasi Gen *pac* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol

Dengan ini menyatakan bahwa, saya telah melaksanakan penugasan penelitian dan telah menyusun Laporan Akhir Pelaksanaan Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI) Dikti Tahun Anggaran 2018 sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor: 109/SP2H/LT/DRPM/2018 dan Surat Kontrak Pelaksanaan Penelitian Universitas Ahmad Dahlan Nomor: PSNI-040/SKPP/III/2018.

Demikian Pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 09 November 2018

Ketua Peneliti,

Mengetahui
Dekan FKIP



Dr. Trikinasih Handayani, M.Si
NIP. 195909071985032002



Trianik Widyaningrum, M.Si
NIY 60970160

Mengetahui
Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Ahmad Dahlan,



Dr. Widodo, M.Si
NIP. 196002211987091001

BERITA ACARA
SERAH TERIMA LAPORAN AKHIR
PELAKSANAAN HIBAH PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL INSTITUSI
TAHUN ANGGARAN 2018

Pada hari ini **Jumat** tanggal **Sembilan** bulan **November** tahun **Dua ribu delapanbelas** bertempat di Kantor LPPM UAD diadakan serah terima Laporan Akhir Pelaksanaan Hibah Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI) Dikti Tahun Anggaran 2018 sebagai berikut.

1. Nama : Dr. Widodo, M.Si.
Judul : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan
Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**.
2. Nama : Trianik Widyaningrum, M.Si
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI)
Judul : Identifikasi Gen *pdv* dan *adh* dari *Saccharomyces cerevisiae* Indigenous
Penelitian : Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol

Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK KEDUA **telah menyerahkan** Laporan Akhir Pelaksanaan Hibah Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI) Dikti Tahun Anggaran 2018 dari PIHAK KEDUA, dan PIHAK PERTAMA **telah menerima** Laporan Akhir Pelaksanaan Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI) Dikti Tahun Anggaran 2018 dengan skim dan judul sebagaimana tersebut di atas sebanyak 3 (tiga) eksemplar.

Demikian, berita acara ini dibuat dengan sebenarnya.

Yogyakarta, 10 November 2018

PIHAK KEDUA
Kepala LPPM UAD,



Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 19600221 198709 1 001

PIHAK PERTAMA
Ketua Peneliti,

Trianik Widyaningrum, M.Si
NIP. 60970160

BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN (BAPP)
Nomor: BAPP: 109/SP2H/LT/DRPM/2018

Pada hari ini Jumat, tanggal sembilan November duaribu delapan belas (09-11-2018), kami yang bertandatangan di bawah ini:

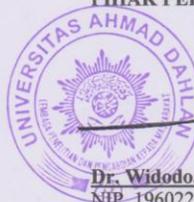
I.	N a m a	: Dr. Widodo, M.Si.
	Jabatan	: Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan (LPPM UAD).
Selanjutnya disebut PIHAK PERTAMA		
II.	Nama	: Trianik Widyaningrum, M.Si
	Jabatan	: Dosen/Peneliti
	Skim	: Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI)
	Judul Penelitian	: Identifikasi Gen <i>p4c</i> dan <i>adh</i> dari <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan Untuk Produksi Etanol
Selanjutnya disebut PIHAK KEDUA .		

1. Dengan ini **PIHAK KEDUA** menyatakan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang telah dtugaskan oleh **PIHAK PERTAMA** berupa Penelitian Strategis Nasional Institusi (PSNI) Dikti Tahun Anggaran 2018 sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor: 109/SP2H/LT/DRPM/2018 dan Surat Kontrak Pelaksanaan Penelitian Universitas Ahmad Dahlan Nomor: PSNI-040/SKPP/III/2018.
2. **PIHAK PERTAMA** menerima hasil pekerjaan yang telah diselesaikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagaimana tersebut di atas.

Yogyakarta, 09 November 2018

PIHAK PERTAMA,

PIHAK KEDUA,



Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 19602211987091001

Trianik Widyaningrum, M.Si
NIY. 60970160

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : IDENTIFIKASI GEN *pdh* dan *adh* DARI *Saccharomyces cerevisiae* INDIGENOUS NIRA AREN, KELAPA, NIPAH, DAN SIWALAN UNTUK PRODUKSI ETANOL

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : TRIANIK WIDYANINGRUM, S.Si, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
NIDN : 0514017001
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Biologi
Nomor HP : 0816682123
Alamat surel (e-mail) : trianikwidyaningrum@ymail.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : Dra LISTIATIE BUDI UTAMI M.Sc.
NIDN : 0018096902
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 3 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 74,500,500
Biaya Keseluruhan : Rp 192,000,500

Mengetahui,
Wakil Dekan FKIP UAD

(Dr. Dody Hartanto, M.Pd)
NIP/NIK 60090563

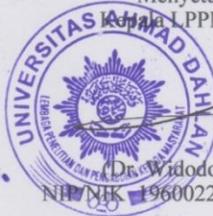


Yogyakarta, 11 - 11 - 2019
Ketua,


(TRIANIK WIDYANINGRUM, S.Si, M.Si)
NIP/NIK 60970160

Menyetujui,
Wakil LPPM UAD

(Dr. Widodo, M.Si)
NIP/NIK 196002211987091001

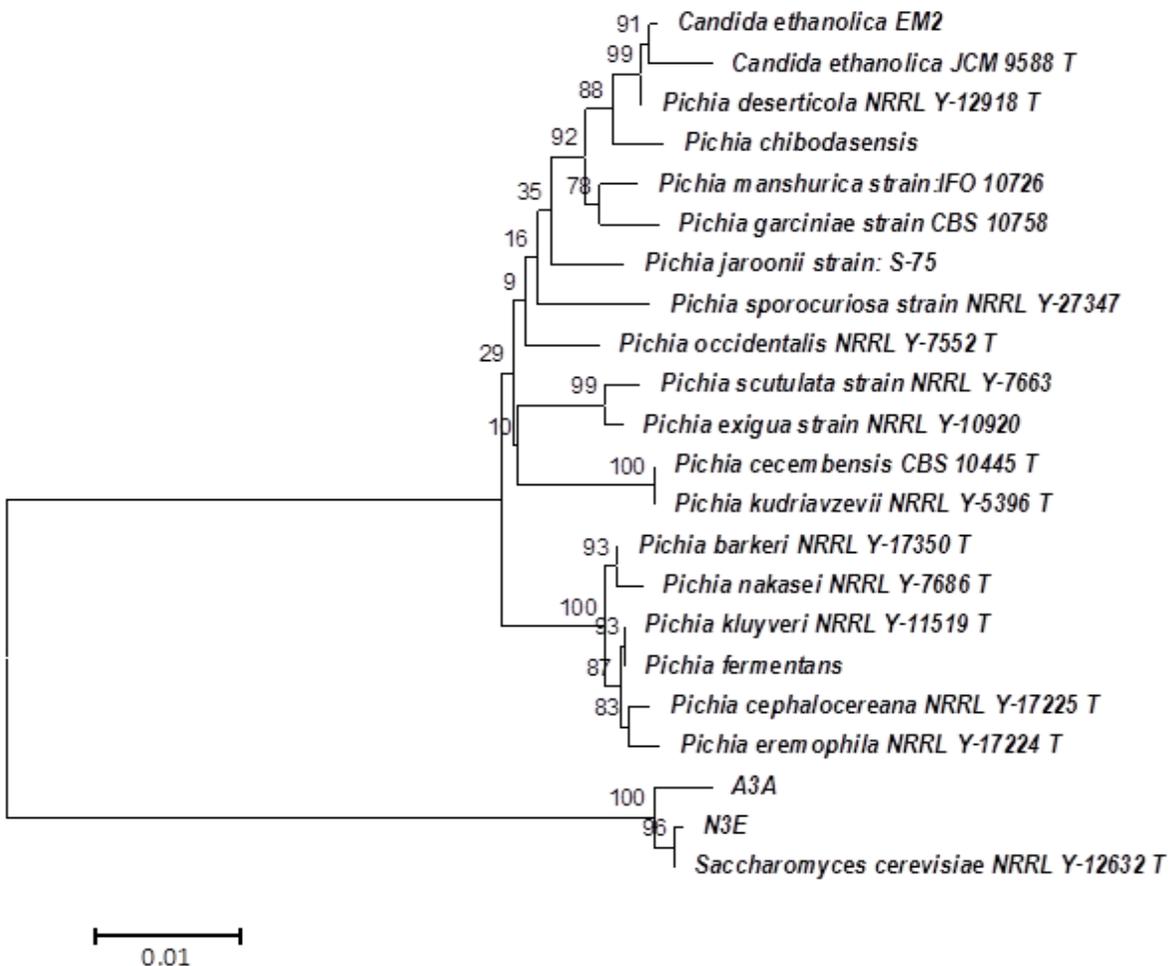


Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template, ataupun menghapus penjelasan di setiap poin

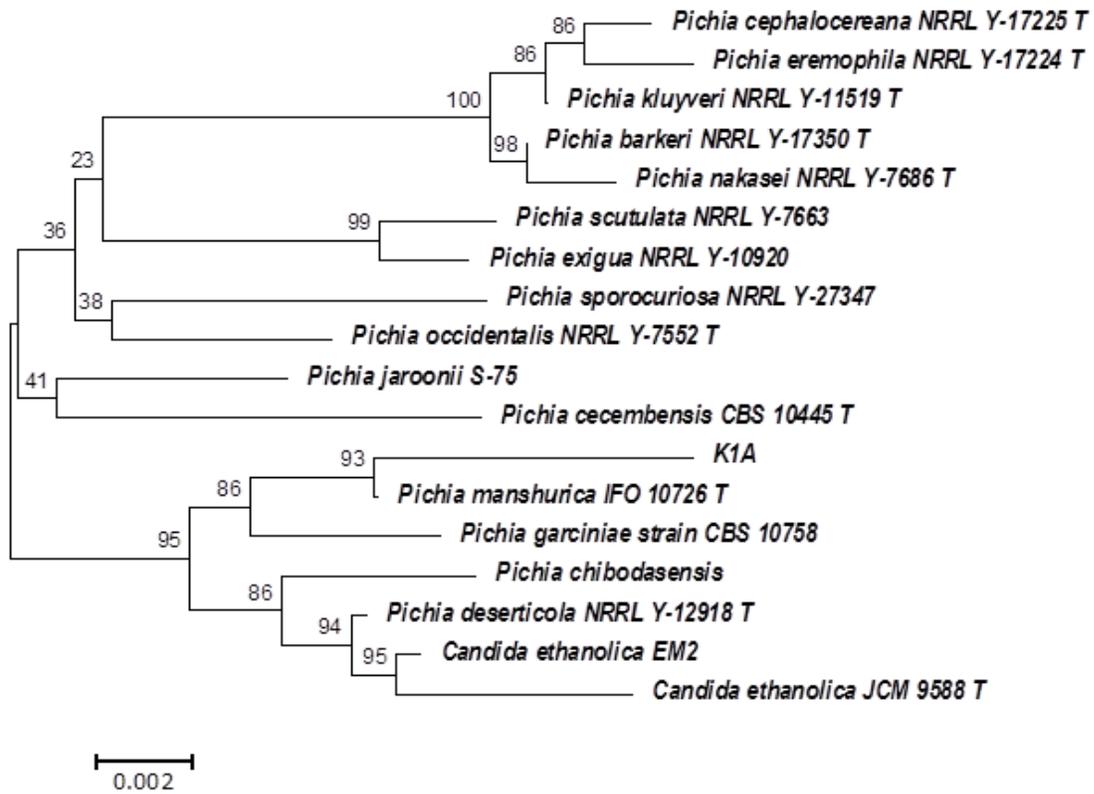
C. **HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Hasil Penelitian Tahun I

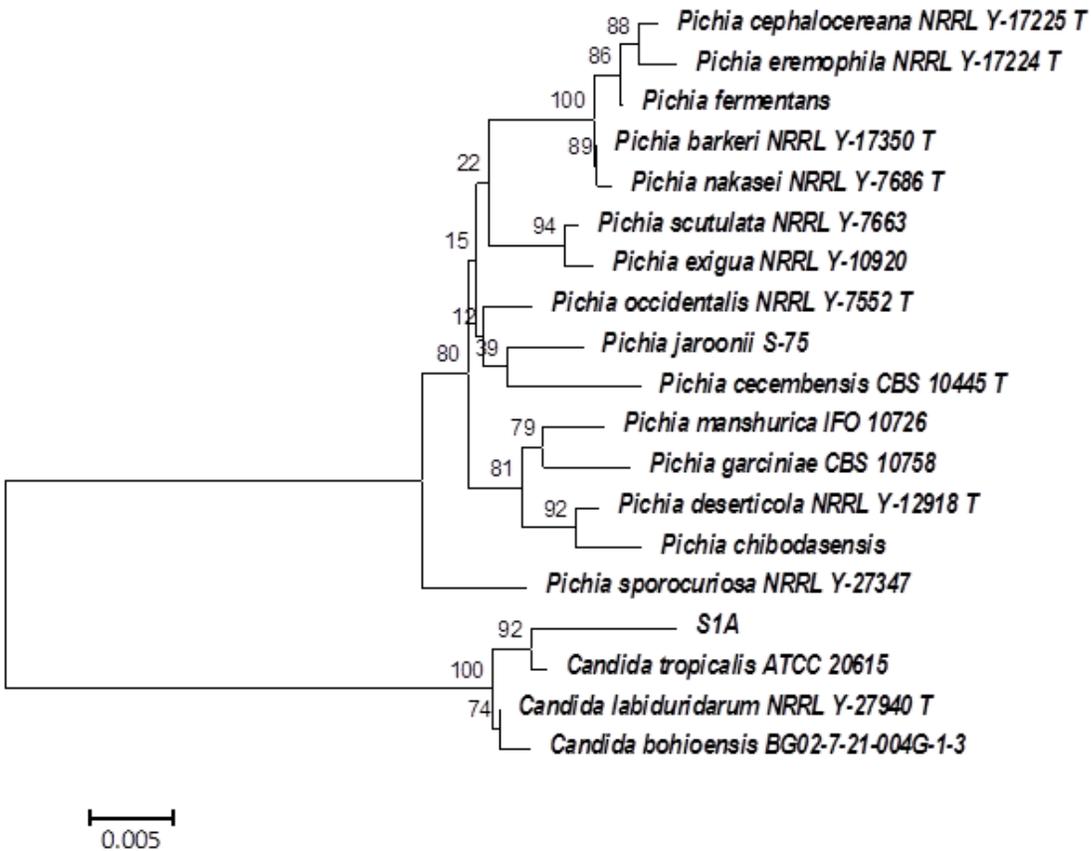
Pada Tahun I tujuan penelitiannya adalah mengidentifikasi Khamir indigenous dalam nira aren, kelapa, dan Siwalan. Hasil identifikasi dengan pohon filogeni sebagai berikut



Gambar 1. Pohon Filogeni isolat A3A dan N3E (dari nira Aren dan Nipah)



Gambar 2. Pohon Filogeni isolat K1A (dari Nira Kelapa)

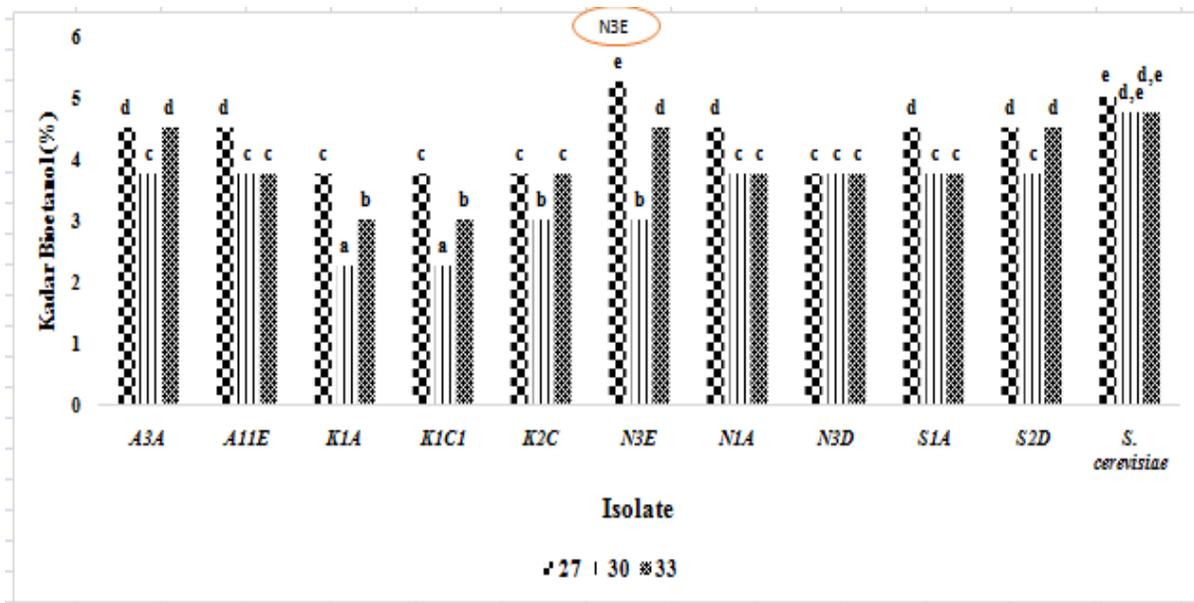


Gambar 3. Pohon Filogeni isolat S1A (dari Nira Siwalan)

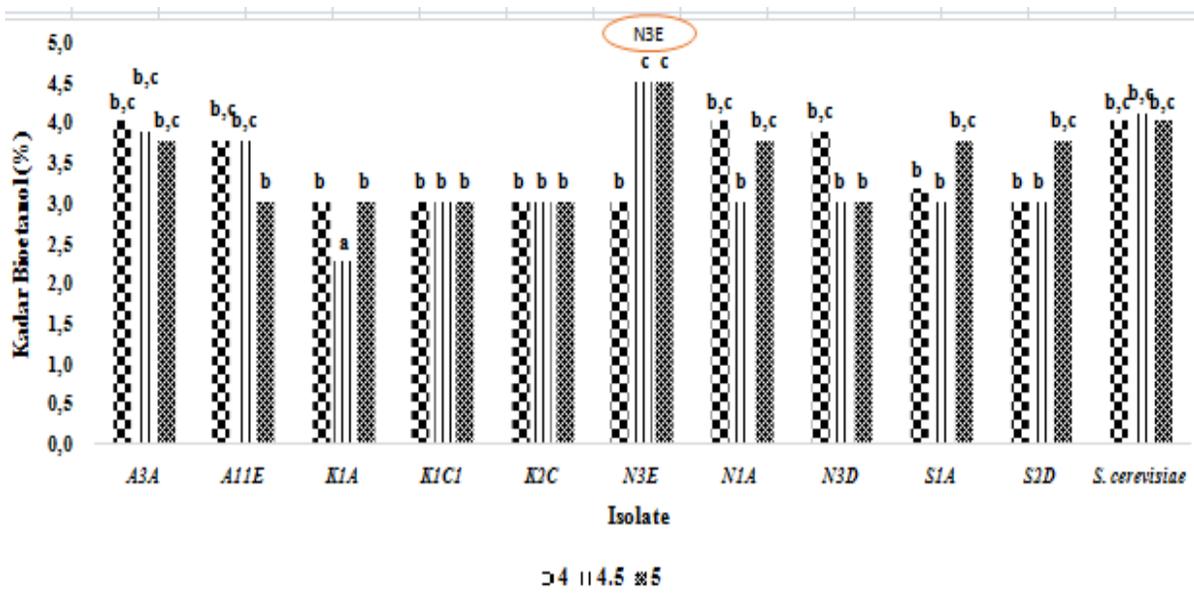
Hasil identifikasi molekuler dengan menggunakan primer 18S [1].menunjukkan bahwa isolat A3A (dari nira Aren) dan N3E (dari nira nipah) menunjukkan isolat tersebut similar dengan *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632^T, sedangkan isolat K1A (dari nira kelapa) similar dengan *Pichia manshurica* IFO 10726^T, dan isolate S1A (dari nira Siwalan similar dengan *Candida tropicalis* ATCC 20615, dengan nilai similaritas semuanya 99,9% (Kumar *et al.*, 2018)

Hasil Penelitian Tahun II

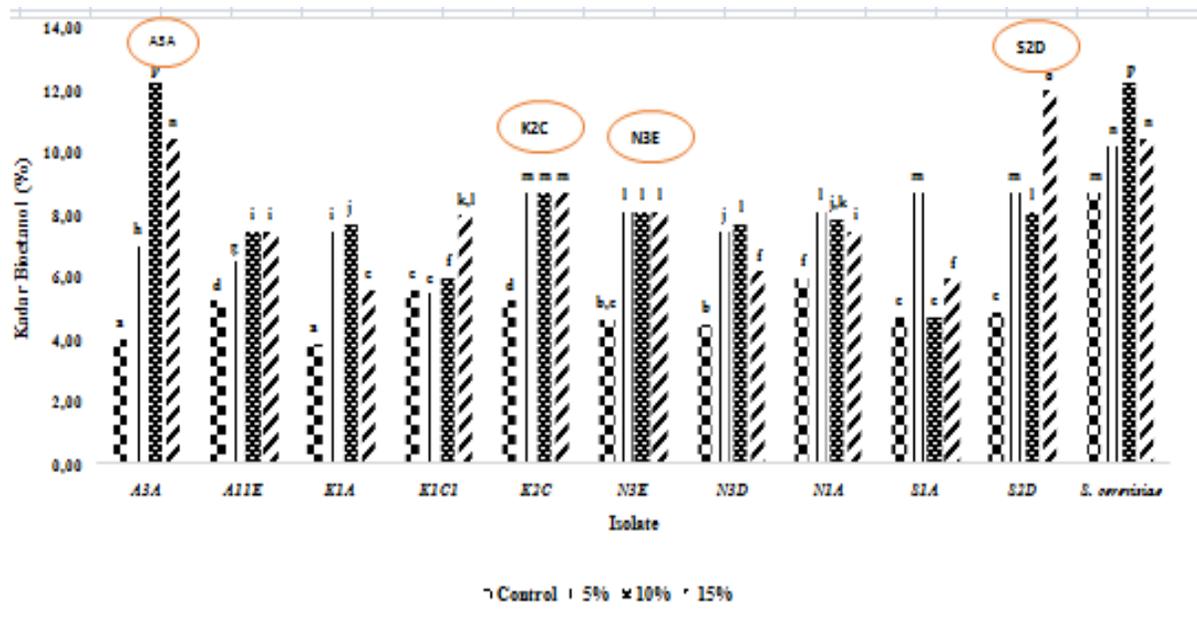
Tujuan Penelitian Tahun II adalah untuk mengetahui kondisi optimum substrat dan kondisi optimum fermentasi untuk produksi etanol dari species khamir indigenous dalam nira aren, kelapa, dan Siwalan. Optimasi produksi bioetanol oleh khamir terpilih dengan menggunakan air kelapa dengan perlakuan pH, suhu, dan penambahan gula. Hasil penelitian sebagai berikut.



Gambar 4. Pengaruh suhu terhadap kadar bioethanol



Gambar 5. Pengaruh pH terhadap kadar bioethanol



Gambar 6. Pengaruh Penambahan gula terhadap kadar bioethanol

Berdasar hasil penelitian terlihat kondisi optimum untuk penghasilan bioethanol adalah pada suhu 27 °C, pH 4 dan 4,5, serta pada penambahan gula 10% dan 15% dengan penghasilan bioethanol tertinggi mencapai 12 %. Hasil dengan perlakuan suhu (Gambar 4) menunjukkan bahwa, isolat N3E menghasilkan bioethanol tertinggi pada 27 °C (5,25%). Suhu adalah salah satu parameter terpenting dalam produksi etanol karena hidrolisis enzimatis dan laju fermentasi glukosa tergantung pada suhu. Umumnya suhu fermentasi memiliki pengaruh yang lebih besar pada laju fermentasi. Suhu fermentasi meningkatkan laju pertumbuhan serta laju pembentukan produk meningkat. Tetapi ada batasan untuk proses bioproses, suhu yang lebih tinggi mungkin tidak mendukung pertumbuhan, sel-sel dapat mati, enzim dapat mengalami denaturasi dan laju pembentukan produk mungkin terpengaruh (Umamaheswari *et al.*, 2010).

Tingkat pertumbuhan mikroorganisme secara langsung dipengaruhi oleh suhu (Charoenchai, and Henschke, 1999) . Suhu tinggi yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhan sel menjadi faktor stres bagi mikroorganisme [5]. Kisaran suhu ideal untuk fermentasi adalah antara 20 dan 35 °C. Sel-sel *S. cerevisiae* yang bebas memiliki suhu optimal mendekati 30 °C sedangkan sel yang diimmobilisasi memiliki suhu optimum yang sedikit lebih tinggi karena kemampuannya untuk mentransfer panas dari permukaan partikel ke dalam sel [6]. Selain itu, enzim yang mengatur aktivitas mikroba dan proses fermentasi sensitif terhadap suhu tinggi yang dapat mendenaturasi struktur tersiernya dan menonaktifkan enzim (Phisalaphong, and Srirattana, 2010).

Menurut Agbogbo ((2008), etanol yang optimal dapat diperoleh jika kisaran pH untuk fermentasi menggunakan *P.stipilis* adalah sekitar 4,5-5,5. Sementara itu, Narendranath (2005) menjelaskan, etanol yang optimal dapat dicapai jika kisaran pH untuk fermentasi oleh *S.cerevisiae* sekitar 5,0-5,5.

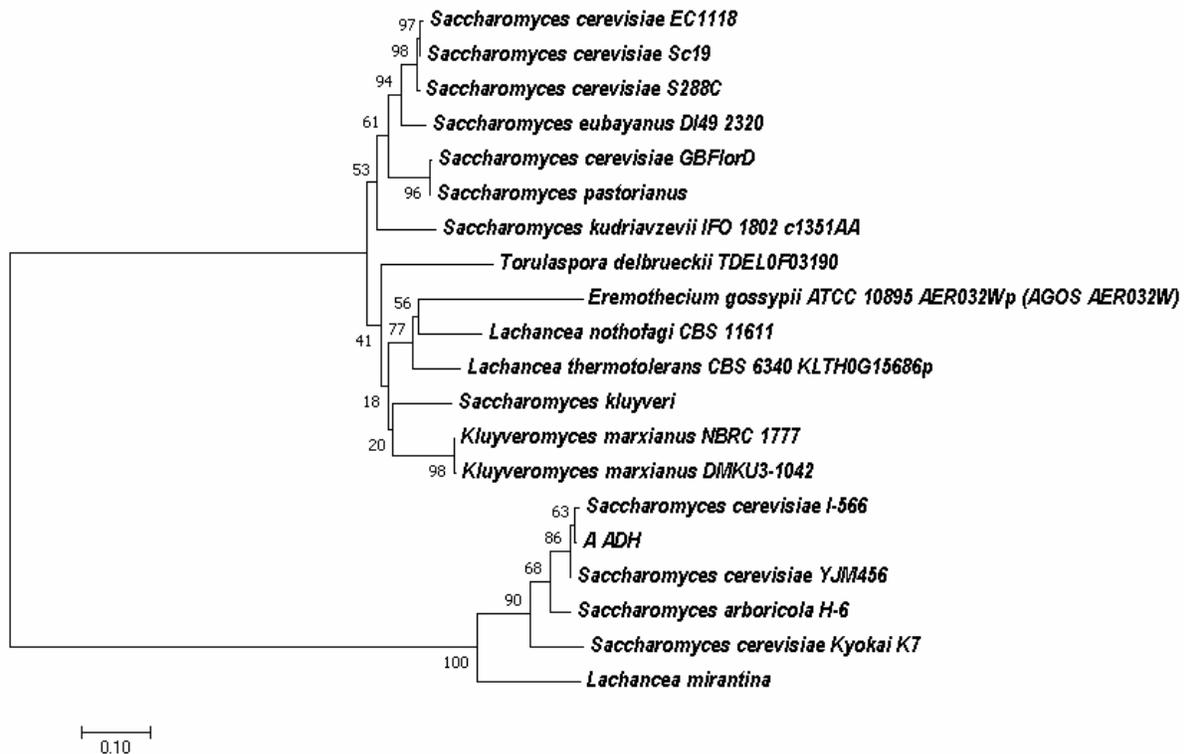
Berdasar Gambar 6 terlihat dengan perlakuan penambahan gula menunjukkan bahwa isolat A3A bioethanol tertinggi pada penambahan gula 10% (12,25%). Konsentrasi gula yang diperlukan untuk etanol optimal adalah 120 g / L (*P.stipitis*), tetapi *S.cerevisiae* konsentrasi gula relatif rendah. Peningkatan

konsentrasi gula hingga tingkat tertentu menyebabkan laju fermentasi meningkat. Namun, penggunaan konsentrasi gula yang berlebihan akan menyebabkan laju fermentasi yang stabil. Ini karena konsentrasi penggunaan gula berada di luar kapasitas penyerapan sel mikroba. Secara umum, tingkat maksimum produksi etanol dicapai ketika menggunakan gula pada konsentrasi 150 g / L. Konsentrasi gula awal juga telah dianggap sebagai faktor penting dalam produksi etanol. Produktivitas etanol yang tinggi dan hasil dalam fermentasi dapat diperoleh dengan menggunakan konsentrasi gula awal yang lebih tinggi. Namun, itu membutuhkan waktu fermentasi yang lebih lama dan biaya pemulihan yang lebih tinggi [10]

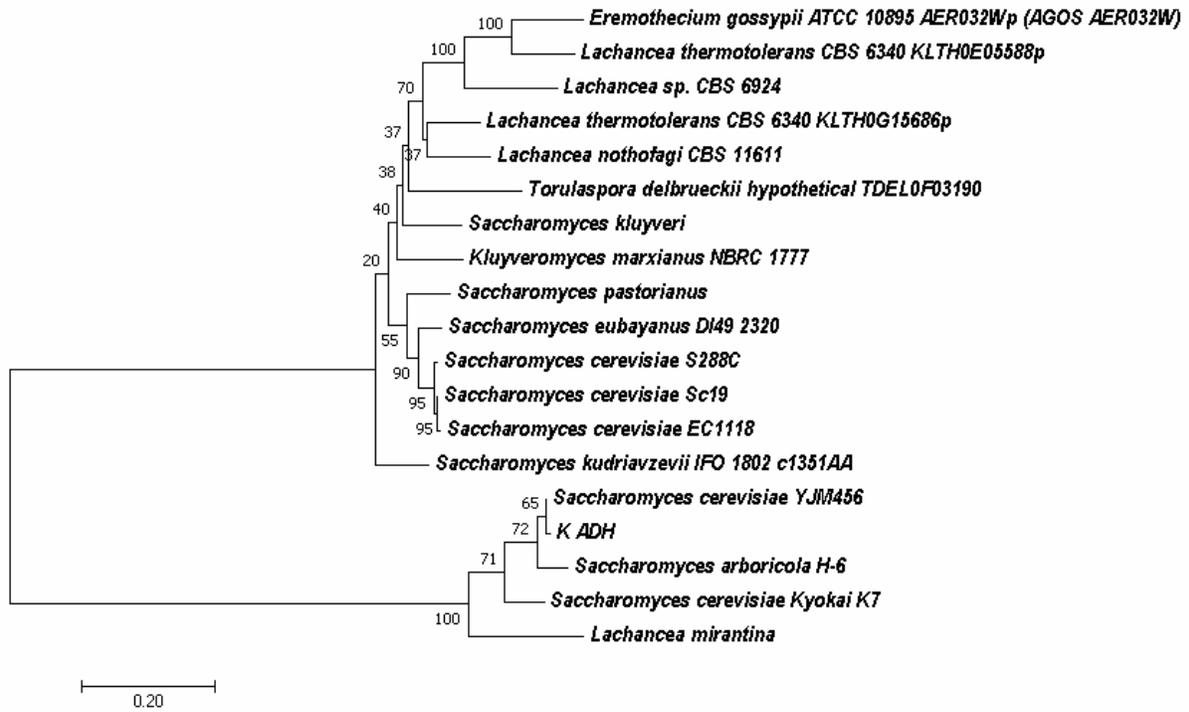
Hasil Penelitian Tahun III

Tujuan penelitian pada tahun III adalah untuk mengidentifikasi gen penyandi etanol *pdh* dan *adh* yang terdapat dalam khamir *indigenus* dari nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan paling berpotensi untuk produksi etanol. Hasil identifikasi gen secara molekuler dengan menggunakan Primer Yadh1 gene Forward 5'GGCGGATCCTATCCCAGAAACTCAAAAAGGTG-3' dan

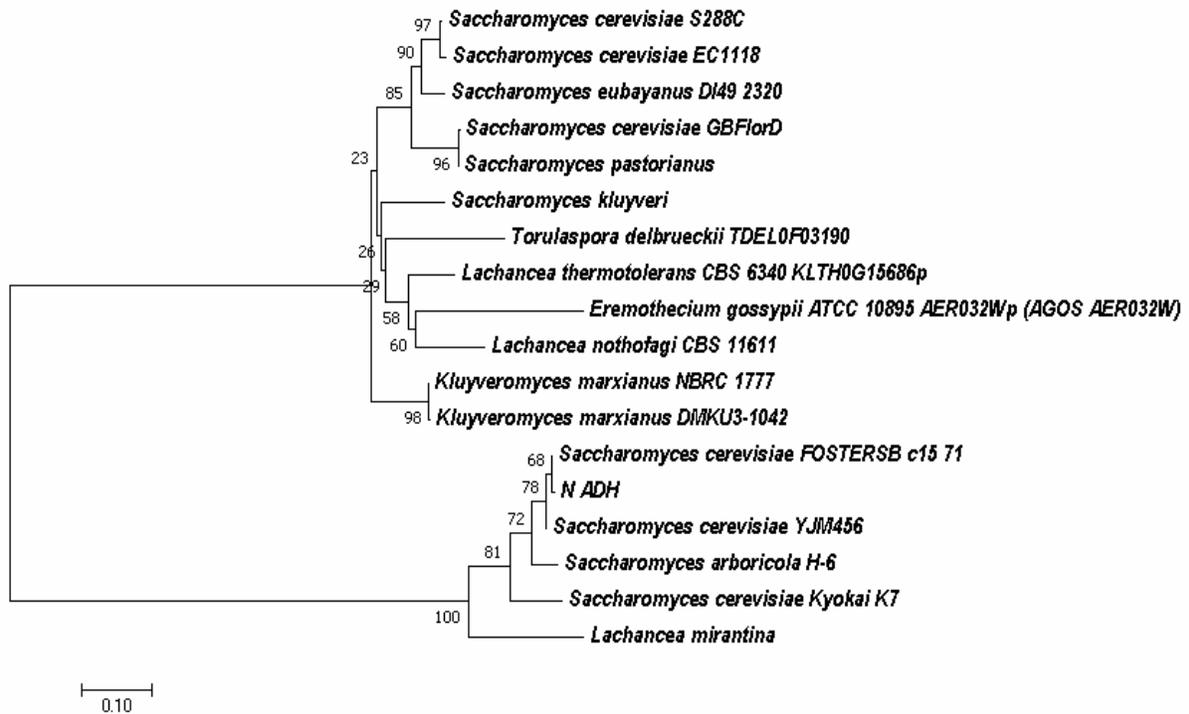
Reverse 5'-GGGAATTCCAACAACGTATCTACCAACGA-3' (Aspar *et.al.*, 2011) sebagai berikut



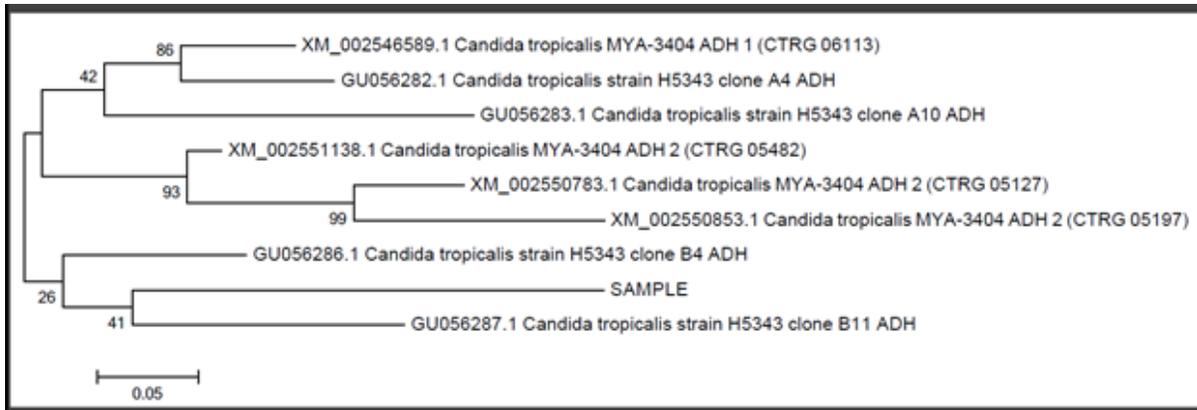
Gambar 7. Pohon Filogeni gen ADH isolat A



Gambar 8. Pohon Filogeni gen ADH isolat K

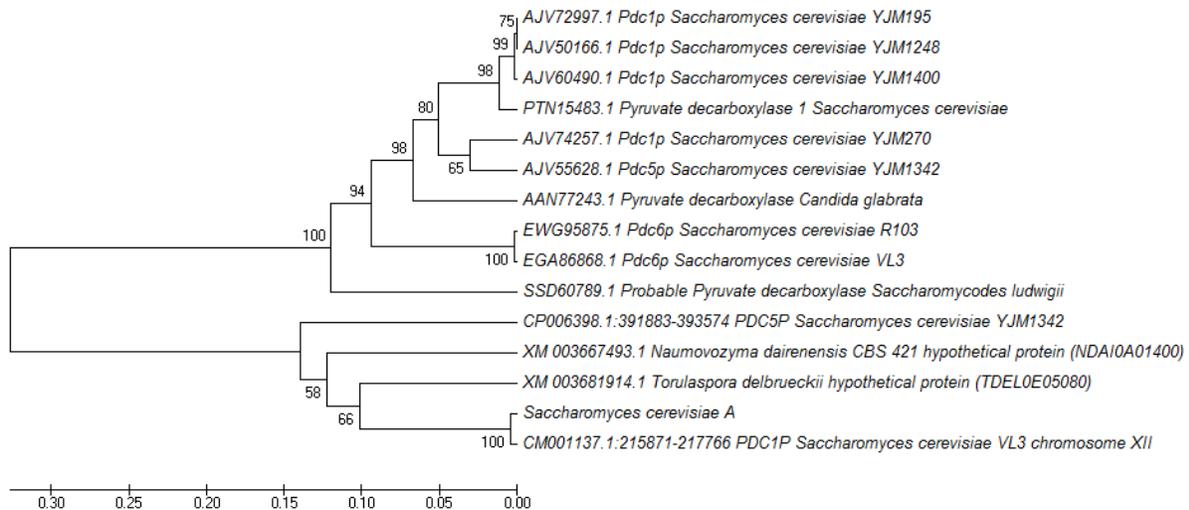


Gambar 9. Pohon Filogeni gen ADH isolat N

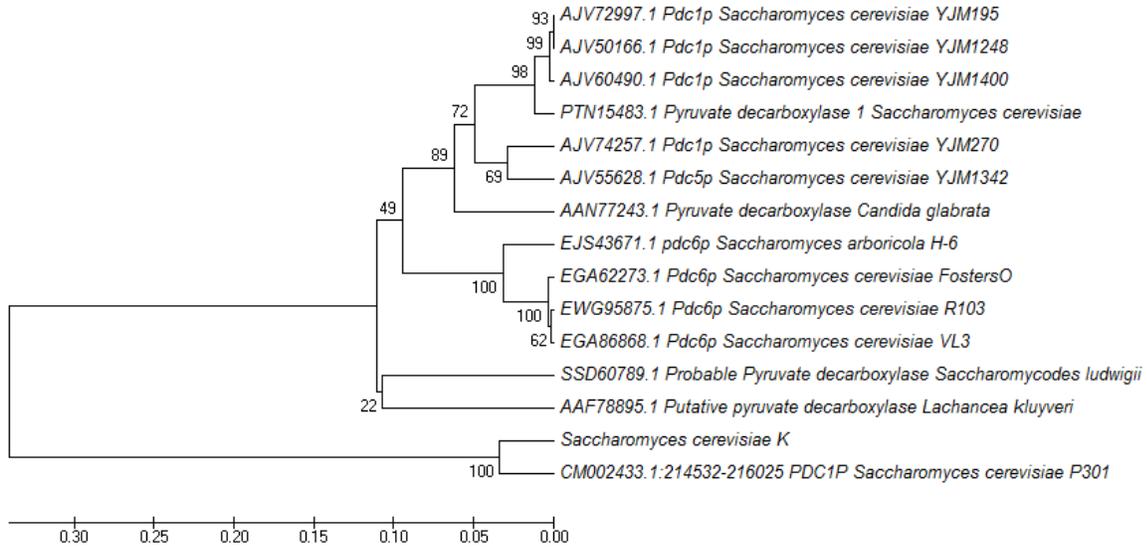


Gambar 10. Pohon Filogeni gen ADH isolat S

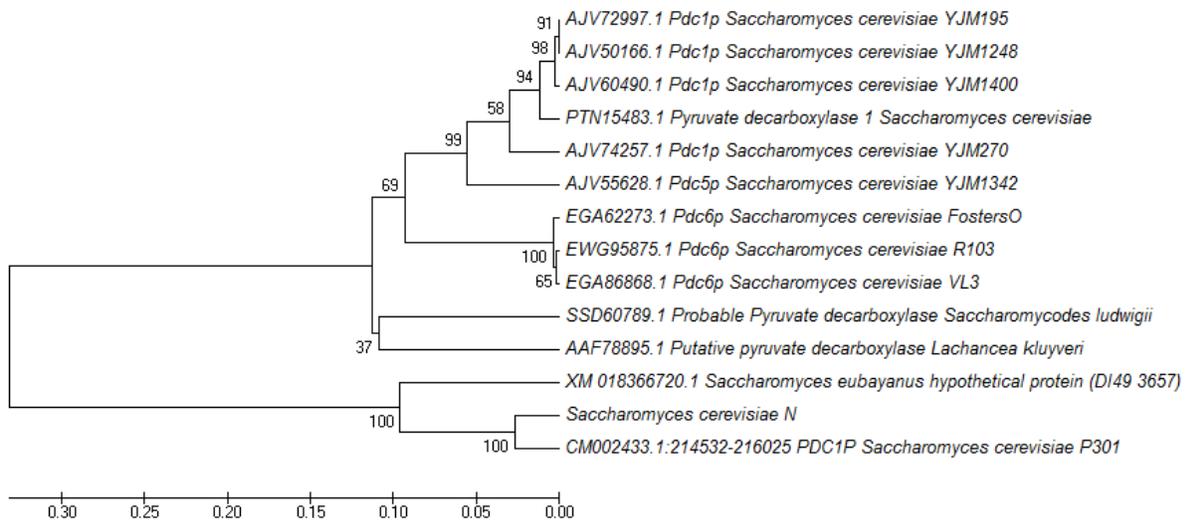
Berdasar analisis filogeni gen ADH (A) similar dengan gen ADH 1 dari *Saccharomyces cerevisiae* I 566 dengan nilai similaritas 99,5%, gen ADH (K) similar dengan gen ADH 1 dari *Saccharomyces cerevisiae* YJM 456 dengan nilai similaritas 99,5%, gen ADH (N) similar dengan gen ADH 1 dari *Saccharomyces cerevisiae* FOSTER SB c15 71 dengan nilai similaritas 99,6%, sedangkan gen ADH dari isolate S similar dengan *Candida tropicalis* strain H5343 dengan nilai similaritas 99,6%



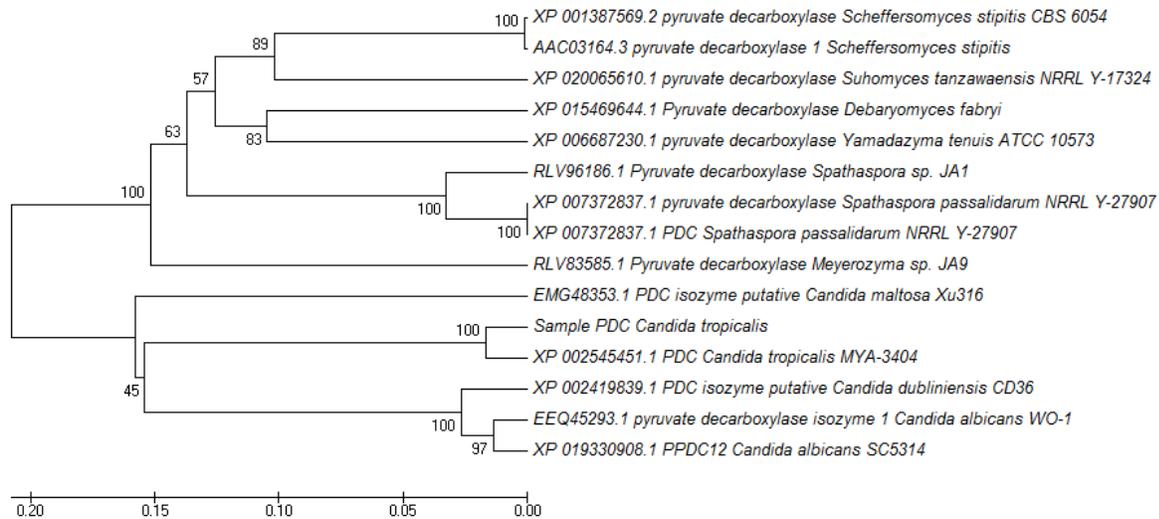
Gambar 11. Pohon Filogeni gen PDC isolat A



Gambar 12. Pohon Filogeni gen PDC isolat K



Gambar 13. Pohon Filogeni gen PDC isolat N



Gambar 14. Pohon Filogeni gen PDC isolat S

Berdasar analisis filogeni gen PDC (A) similar dengan gen PDC1 dari *Saccharomyces cerevisiae* VL 3 Kromosom XII dengan nilai similaritas 99,6%, gen PDC (K) dan (N) similar dengan gen PDC 1 dari *Saccharomyces cerevisiae* P301 dengan nilai similaritas 99,6%, sedangkan gen PDC (S) similar dengan gen PDC dari *Candida tropicalis* MYA 3404 dengan nilai similaritas 99,6%. Nilai similaritas diatas 95% menunjukkan hasil yang baik [12].

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan pada tahun pelaksanaan penelitian. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian luaran

Luaran Tahun I

- [Seminar Nasional Biotropica di UGM](#)
- [Seminar Internasional ICGRC di Malang](#)
- [Naskah jurnal Biotropica](#)
- [Draf paten](#)
- [Bahan Kuliah](#)

Luaran Tahun II

- [Seminar Internasional ICGRC di Malang](#)
- [Seminar Internasional ICGAB di Malang](#)
- [Accepted di Jurnal Nasional Gontor Agrotech Science Journal](#)

- [Draf journal internasional](#)
- [Bahan Kuliah](#)

Luaran Tahun III

- [Seminar Internasional APEC-ACABT 2019 di Bali](#)
- [Seminar Internasional ICGRC di Malang](#)
- Seminar Internasional Sciemathic 2019 di Malaca
- [Accepted di Jurnal](#) ASM Science
- [Submitted](#) di journal Internasional Biodiversitas
- [Bahan Kuliah](#)

E. PERAN MITRA: Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (jika ada). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas mengikuti format sebagaimana terlihat pada bagian isian mitra

Mitra berperan sebagai penyedia air kelapa untuk penelitian aplikasi isolat terpilih dalam pembuatan bioetanol

F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Publikasi di journal internasional memerlukan waktu yang lama dan selama proses untuk publikasi di journal internasional sudah pernah direject.

G. RENCANA TINDAK LANJUT PENELITIAN: Tuliskan dan uraikan rencana tindak lanjut penelitian selanjutnya dengan melihat hasil penelitian yang telah diperoleh. Jika ada target yang belum diselesaikan pada akhir tahun pelaksanaan penelitian, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai tersebut.

Rencana tindak lanjut adalah menyelesaikan buku ajar hingga tercetak dan ber ISSN

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan akhir yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

- [1] T. White, T. Bruns, B. Lee, and J. Taylor, *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: Innis MA, Gelfand H, Sninsky JS, White TJ (eds) *PCR-protocols and applications: a laboratory manual*. 1990.
- [2] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, and K. Tamura, "MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms," *Mol. Biol. Evol.*, vol. 35, no. 6, pp. 1547–1549, 2018.
- [3] T. Umamaheswari, M., Jayakumari, M., Maheswari, K., Subashree, M., Mala, P., Sevanthi, T., and Manikandan, "Bioethanol Production From Cellulosic Materials," *Asian J. Sci. Technol.*, vol. 1, no. 1, pp. 005–011, 2010.

- [4] P. A. Charoenchai, C. G.H.Henschke, "Effects of temperature, pH, and sugar concentration on the growth rates and cell biomass of wine yeasts," vol. 49, no. 3, pp. 283–288, 1999.
- [5] J. F. MarelneCot, M.M.O. Loret, "Physiological Behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* in Aerated Fed-Batch Fermentation for High Level Production of Bioethanol," *FEMS Yeast Res.*, vol. 7, no. 1, pp. 22–32, 2008.
- [6] F. Liu, R. and Shen, "Impacts of Main Factors on Bioethanol Fermentation from Stalk Juice of Sweet Sorghum by Immobilized *Saccharomyces cerevisiae* (CICC 1308)," *Bioresour. Technol.*, vol. 99, pp. 847–854, 2008.
- [7] W. T. Phisalaphong, M.N. Srirattana, "Mathematical Modeling To Investigate Temperature Effect on Kinetic Parameters of Ethanol Fermentation," *J. Biochem. Engeenering*, vol. 28, no. 1, pp. 36–43.
- [8] K. A. • Frank Kwesi Agbogbo, "Cellulosic ethanol production using recombinant *Zymomonas mobilis*." pp. 1–5, 2008.
- [9] N. V. and P. R. Narendranath, "Relationship Between pH and Medium Dissolved Solids In Terms Of Growth And Metabolism Of Lactobacilli And *Saccharomyces cerevisiae* During Ethanol Production," *Appl. Enviromental Microbiol.*, vol. 71, no. 5, pp. 2239–2243, 2005.
- [10] H. Zabed, G. Faruq, J. N. Sahu, M. S. Azirun, R. Hashim, and A. Nasrulhaq Boyce, "Bioethanol production from fermentable sugar juice," *Sci. World J.*, vol. 2014, 2014.
- [11] R. A. R. and M. H. U. Mohd Rezuan M Aspar, "Cloning of Gene Encoding Yeast Alcohol Dehydrogenase 1 (YADH 1) in *Escherichia coli* TOP10 for Biocatalysis," *Pertanika J. Sci. Technol*, vol. 19, no. 2, pp. 423 – 430, 2011.
- [12] B. Tuntiwongwanich, S. and Leenanon, "Morphology and Identification of Yeasts Isolated from Toddy Palm in Thailand," *J. Microsc. Soc. Thail.*, vol. 23, pp. 34–37, 2009.