

Keragaman, Potensi, dan Gen Penyandi Produksi Etanol pada Khamir Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan

Prof. Dr. Trianik Widyaningrum, S.Si., M.Si.

**Pengukuhan Guru Besar
Universitas Ahmad Dahlan**

Yogyakarta, 15 Jumadats Tsaniyah 1445 H/ 28 Desember 2023 M

Pidato Pengukuhan Guru Besar

Oleh Prof. Dr. Trianik Widyaningrum, S.Si., M.Si.
Universitas Ahmad Dahlan

28 Desember 2023

**Keragaman, Potensi, dan Gen Penyandi Produksi Etanol
Pada Khamir *Indigenous* Nira Aren,
Kelapa, Nipah, dan Siwalan**

Oleh Prof. Dr. Trianik Widyaningrum, S.Si., M.Si.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

*Alhamdulillah washolaatu wassalaamu `alaa rasulillah wa `alaa
aalihi waashhaabihiiwamawwaaalah. Asyhadu alla ilaaha illalloh
wahdahuu laa syariikalah, wa ashhadu anna
muhammadan `abduhuuwarasuuluh. Ammaba `du.*

Yang terhormat Ketua Majelis Diktilitbang PP Muhammadiyah.

Yang saya hormati Kepala Lembaga Layanan Pendidikan Tinggi
(LLDIKTI) Wilayah V Yogyakarta, Bapak Prof. drh. Aris Junaidi,
Ph.D.

Yang saya hormati, Bapak Ketua dan Sekretaris BPH UAD, Prof. Dr.
Marsudi Triatmodjo, S.H., L.L.M., dan Ir. Azman Latif.

Yang saya hormati Ketua dan Sekretaris Senat Universitas Ahmad
Dahlan, Prof. Dr. Ir. Dwi Sulisworo, M.T., dan Dr. Siti Mahsanah
Budijati, S.T.P., M.T.

Yang saya hormati, Rektor UAD, Prof. Dr. Muchlas, M.T. dan para
wakil Rektor UAD:

Drs. Parjiman, M.Ag.

Rusydi Umar, S.T., M.T, Ph.D.

Dr. Utik Budiyati, S.E., M.M.

Dr. Norma Sari, S.H, M. Hum.

Dr. Gatot Sugiharto, S.H., M.H.

Yang saya hormati, Dekan FKIP UAD, Muhammad Sayuti, S.Pd., M.Pd., M.Ed., Ph.D., dan Wakil Dekan FKIP UAD Dr. Suyatno, M.Pd.I. dan Dr. Ani Susanti, M.Pd.B.I.

Yang saya hormati Para Ketua, Sekretaris, dan Anggota Senat Fakultas di lingkungan UAD.

Yang saya hormati Para Kaprodi dan Sekprodi di lingkungan UAD.

Yang saya hormati pula Bapak/Ibu para tamu undangan.

Alhamdulillah, puji syukur senantiasa kita panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa ta`alaa, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya, sehingga pada kesempatan ini, kita bisa hadir bersama-sama di hari yang berbahagia ini. Tak lupa, sholawat serta salam senantiasa kita panjatkan kepada junjungan kita, Nabi Agung Muhammad Shallallahu `alaihi wasallam, yang merupakan suri tauladan dalam semua sisi kehidupan kita.

Selanjutnya saya dengan tulus menyampaikan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya atas kehadiran ibu bapak sekalian, ini merupakan suatu kehormatan dan kebahagiaan bagi saya sekeluarga. Pada kesempatan yang berbahagia ini, perkenankan saya di hadapan sidang senat, untuk menyampaikan pidato pengukuhan saya sebagai guru besar dalam Bidang Mikrobiologi, pada Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Ahmad Dahlan (UAD) dengan judul *“Keragaman, Potensi, dan Gen Penyandi Produksi Etanol Pada Khamir Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, dan Siwalan”*.

Hadirin yang saya hormati,

Pada dekade terakhir ini populasi manusia telah meningkat secara cepat, sehingga berdampak pada pemanfaatan bahan bakar fosil yang semakin banyak. Bahan bakar fosil, batu bara, gas alam, dan minyak menyumbang 90% dari total permintaan energi di dunia. Sumber-sumber tersebut tidak lagi dianggap berkelanjutan, dan ketersediaannya terbatas. Sebagai sumber energi utama bahan bakar fosil tersebut menyebabkan timbulnya masalah di seluruh dunia seperti polusi lingkungan dan pemanasan global [1]

Menipisnya pasokan energi dunia yang tak terhindarkan, menyebabkan negara-negara di seluruh dunia beralih pada sumber energi alternatif, antara lain pemanfaatan bioetanol. Bioetanol adalah salah satu sumber energi terbarukan utama di masa depan [2]. Bioetanol memiliki angka oktan relatif lebih tinggi dibandingkan dengan bensin, penggunaannya sebagai bahan campuran pada bensin mengurangi emisi CO₂, NO_x, dan hidrokarbon setelah pembakaran. Penggunaan bioetanol menunjukkan rasio kompresi yang tinggi dan peningkatan produksi energi dalam mesin pembakaran [3].

Produksi bioetanol sebagai bahan bakar melalui fermentasi potensial menjadi alternatif untuk pengganti bahan bakar fosil dan dapat digunakan sebagai satu-satunya bahan bakar di kendaraan dengan peralatan khusus atau dalam campuran bahan bakar. Bioetanol saat ini berasal dari gula, pati, dan bahan selulosa. Tiga alasan utama untuk produksi bioetanol dari biomassa selulosa adalah: i) terbarukan, (ii) tidak menghasilkan gas berbahaya seperti CO₂, SO₂, NO₂ ke lingkungan, dan (iii) ekonomis. Substrat fermentasi yang murah dan dapat memenuhi permintaan bahan bakar di masa depan adalah biomassa lignoselulosa. Biomassa lignoselulosa dapat diperoleh dari limbah tanaman yang tidak dikonsumsi, seperti batang dan cabang tanaman [4]. Saat ini produksi bioetanol dari biomassa lignoselulosa tersebut menjadi solusi masalah lingkungan, ekonomi, dan energi yang dihadapi di seluruh dunia [5].

Pembuatan bioetanol dalam sistem biologi dimulai dari pengubahan gula pentosa dan heksosa menjadi senyawa antara, yaitu asam piruvat, kemudian diubah menjadi produk fermentasi berupa

bioetanol. Hanif *et al.* (2017)[6] menyatakan bahwa bioetanol umumnya diproduksi dari sakarifikasi pati menggunakan enzim alfa-amilase dan glukoamilase. Hasil sakarifikasi menjadi gula sederhana mengalami proses fermentasi oleh bakteri, khamir, atau mikroorganisme lainnya.

Hadirin yang kami hormati,

Pembuatan bioetanol melalui beberapa tahapan, tetapi hanya ada dua tahapan yang pertama kali dijumpai pada khamir dan bakteri *Zymomonas* sp., yaitu tahapan pengubahan gula pentosa menjadi piruvat dan tahapan pengubahan piruvat menjadi bioetanol dan karbondioksida. Produksi bioetanol memerlukan gen kunci, yaitu *piruvat dekarboksilase* (*pdc*) yang mengkode enzim yang mengkatalisis dekarboksilasi piruvat untuk menghasilkan CO₂ dan asetaldehida, yang kemudian direduksi menjadi etanol oleh enzim alkohol dehidrogenase (*adh*) [7]. Enzim katalitik tersebut membutuhkan thiamin pyrophosphate (TPP) dan Mg²⁺ sebagai kofaktor [8]. Menurut Elahi & Rehman (2018)[9] adanya Na²⁺, Mg²⁺ dan Fe²⁺ menyebabkan peningkatan substansial dalam aktivitas enzim *pdc* dan *adh*, tetapi terjadi sedikit penurunan dengan adanya Mn²⁺, Zn²⁺ dan Cu²⁺.

Saccharomyces cerevisiae memiliki tiga gen struktural (*pdc1*, *pdc5*, dan *pdc6*) yang mengkode isoenzim dekarboksilase [10]. Berbagai bentuk alkohol dehidrogenase yaitu *adh1*, *adh2*, *adh3*, dan *adh4* telah dibuktikan dengan gel elektroforesis dalam strain haploid *Saccharomyces cerevisiae*. Gen *adh* tersebut berperan mereduksi asetaldehid menjadi etanol [11].

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memproduksi etanol dari beberapa biomassa termasuk mikro dan makroalga [12], molase[13]; [14], Sargassum [15]; [16]; [17], nira kelapa (*Cocos nucifera*) [18]; nira dari *Nypa* [19]; [20], dan nira dari *Borassur flabellifer* [21]. Indonesia memiliki banyak tanaman palmae seperti Enau atau Aren (*Arenga pinata*); Gebang (*Corypha utan*); Kelapa (*Cocos nucifera*); Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* dan *Elaeis oleifera*); Nibung (*Oncosperma tigillarum*); Nipah (*Nypa fruticans*); Rotan (*Calamus rottan*); Salak (*Salacca zalacca*);

Siwalan atau Lontar (*Borassus flabellifer*); Sagu atau Rumbia (*Metroxylon sago*); Palembang Kuning (*Chrysalidocarpus lutescens*); Palembang Merah atau Pinang Merah (*Cyrtostachys renda* dan *Areca vestiaria*); Palembang Raja (*Roystonea regia*); Palembang Botol (*Hyophorbe lagenicaulis*); dan Pinang (*Areca catechu*) [22]. Tanaman Aren (*A. pinata*), Kelapa (*C. nucifera*), Nipah (*N. fruticans*), dan Siwalan (*B. flabellifer*) banyak dimanfaatkan untuk diambil getah atau niranya dalam pembuatan gula jawa ataupun sekedar diminum, karena mengandung gula berkisar 7,5 sampai 20,0%. Menurut Kurniawan *et al.* (2018) [23] nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan secara berurutan mengandung gula sebesar 12,04%, 10,27%, 12%, dan 10,96%. Nira-nira tersebut dihasilkan dari usaha penyadapan tandan bunga. Kualitas nira yang baik diperoleh dari tandan bunga jantan, sehingga tandan bunga jantan inilah yang kemudian diambil niranya. Nira aren mengandung mineral, antara lain Ca, Cu, Fe, Na, Mg, K, dan P; dengan kadar antara $1,50 \pm 0,23\%$. Nira memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi, sehingga cepat mengalami proses fermentasi, yang dimulai saat nira keluar dari tandan bunga dan berpotensi untuk tempat berkembangnya mikroorganisme antara lain jamur atau bakteri. Pada saat penyadapan kadang-kadang bambu untuk menyadap tidak steril, sehingga mikroorganisme mempercepat proses fermentasi. Saat penyadapan nira dari tandan bunga mempunyai pH berkisar 7, cairan itu mudah mengalami kontaminasi oleh mikroorganisme, sehingga pH nira menjadi lebih rendah [24].

Berdasarkan kandungan glukosa yang tinggi dalam nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan serta adanya mikroorganisme yang memfermentasi glukosa tersebut menjadi etanol dengan bantuan gen *pdh* dan *adh*, maka penting kiranya dilakukan penelitian tentang keragaman, potensi, dan gen penyandi produksi etanol pada khamir *indigenous* nira aren, kelapa, nipah, dan siwalan. Potensi isolat khamir *indigenous* nira pada produksi etanol berguna untuk produksi etanol dengan bahan lain, selain itu juga dapat diketahui kondisi optimum produksi etanol isolat khamir *indigenous* dari nira tersebut. Produksi etanol memerlukan peran gen *pdh* dan *adh*, sehingga penting juga diteliti gen *pdh* dan *adh* yang terdapat dalam khamir *indigenous* nira aren, kelapa, nipah dan siwalan, yang

selanjutnya diteliti kondisi optimum enzim pdc dan adh yang bertanggung jawab dalam produksi etanol.

Hadirin yang kami hormati

Diversitas Khamir yang Berperan pada Fermentasi Glukosa menjadi Etanol

Khamir yang paling banyak berperan pada perubahan glukosa dan bahan berpati menjadi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*, karena khamir ini mampu menghasilkan banyak etanol dan memiliki toleransi yang tinggi terhadap etanol dan senyawa inhibitor lainnya [25];[26], [27]. Pada fermentasi gula menjadi etanol dengan substrat yang banyak mengandung campuran glukosa dan fruktosa, fermentasi berjalan lambat dan fruktosa tetap tersisa pada residu, sehingga produk fermentasi menjadi rendah [28]. Hal tersebut terjadi karena *S. cerevisiae* lebih mampu mengubah glukosa menjadi etanol daripada fruktosa menjadi etanol [29], selain itu *S. cerevisiae* tidak dapat memetabolisme *xylose* menjadi etanol, sehingga diperlukan *Candida tropicalis* untuk membantu pemecahannya [30].

Khamir lain yang berperan dalam pembentukan etanol adalah *Pichia kudriavzevii*. Menurut Oberoi *et al.* (2012) [32], *P. kudriavzevii* yang diisolasi secara termal dapat menghasilkan etanol maksimum (0,43 G/G glukosa) dari pati singkong sedangkan Phuong *et al.* (2012) [33] melaporkan produksi etanol maksimum oleh *Torulaspora globosa* dengan substrat pati singkong adalah 0,26 g/g glukosa. *Pichia stipitis* dapat memproduksi etanol 0,108-0,122g etanol/g gula bit [34]. *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 mampu memproduksi etanol dari xylose [35]. Pada fermentasi anggur dijumpai khamir *Aureobasidium pullulans*, *C. inconspicua*, *C. parapsilosis*, *C. saitoana*, *C. sake* *Cyberlindnera jadinii*, *Debaryomyces hansenii*, *Dekkera bruxellensis*, *Filobasidium magnum*, *Hanseniaspora uvarum*, *Issatchenkia orientalis*, *Kazachstania exigua*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kregervanrija fluxuum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Naganishia diffluens*, *P. fermentans*, *P. kluveri*, *P.*

mandshurica, *P. membranifaciens*, *P. norvegensis*, *P. occidentalis*, *Rhodotorula glutinis*, *R. mucilaginosa*, *S. cerevisiae*, *Starmerella magnolia*, *T. delbrueckii*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Yarrowia lipolytica*, *Zygosaccharomyces bailii*, dan *Zygorhynchus florentina* [36].

Produksi Bioetanol

Bioetanol merupakan etil alkohol yang proses pembuatannya memerlukan proses biologis dan bahan baku alami. Pembuatan biomassa untuk produksi bioetanol sebagai bioenergi memiliki nilai positif bagi lingkungan, karena bioetanol ramah lingkungan dan dapat diperbaharui [6]. Etanol yang terdapat pada bahan bakar bermotor mempunyai struktur kimia yang sama dengan etanol pada minuman. Tingkat kemurnian etanol sebagai bahan bakar berkisar 99,5% yang disebut dengan *Fuel Grade Ethanol* (FGE), sehingga bioetanol ini berbeda dengan etanol sintesis yang terbuat dari senyawa hidrokarbon [37].

Untuk pembuatan bioetanol terdapat 4 macam bahan baku.

a. Gula

Bahan baku yang paling sederhana untuk pembuatan bioetanol adalah glukosa dengan rumus kimia $C_6H_{12}O_6$. Glukosa dapat langsung dimanfaatkan untuk produksi bioetanol. Glukosa berbeda pengertiannya dengan gula keseharian yang dikonsumsi manusia, gula tersebut mengandung laktosa, fruktosa, dan sukrosa. Hasil sampingan pengolahan gula yang berasal dari tebu (*sugarcane*) berupa tetes tebu (*molasses*) yang juga dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bioethanol.

b. Pati

Makanan keseharian, seperti jagung, singkong, dan sagu mengandung pati $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan jumlah n antara 40–3.000. Produksi bioetanol dengan bahan baku pati memerlukan proses untuk memecahnya menjadi glukosa. Proses tersebut dapat berjalan lancar dengan bantuan enzim *amylase*. Bahan baku bioetanol yang berupa pati akan bersaing dengan penggunaan pati sebagai cadangan

pangan bagi manusia, sehingga dapat meningkatkan harga bahan pangan.

c. Selulosa

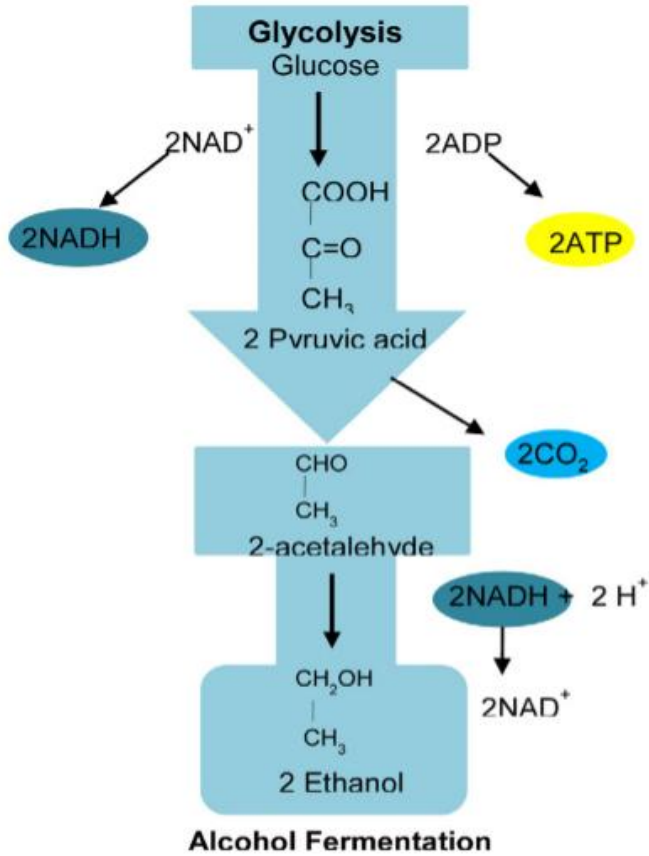
Selulosa merupakan penyusun dinding sel tanaman dengan rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_n$, dengan jumlah n ribuan hingga lebih dari puluhan ribu. Senyawa organik selulosa ini paling banyak dijumpai di muka bumi, diperkirakan akan mendominasi bahan baku bioetanol di masa mendatang. Bahan baku bioetanol ini memerlukan pengolahan awal yang lebih intensif dibandingkan dengan bahan baku lain. Proses *hydrolysis* merupakan cara untuk mengubah struktur selulosa menjadi glukosa, dapat melalui penambahan asam yang dilarutkan pada suhu dan tekanan tinggi, tetapi kondisi asam akan mengganggu proses fermentasi lanjutan, sehingga diperlukan tahap penetralan keasaman, selain itu proses pengasaman membutuhkan energi yang cukup besar sehingga *net energy gain* yang dihasilkan menurun [38].

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 lima persen dari total produksi. Molase umumnya dimanfaatkan sebagai salah satu bahan baku bioetanol dengan koefisiensi konversi sebesar 52% dari total biomassa yang digunakan [13].

Proses *pre-treatment* diperlukan untuk pembuatan bioetanol dengan bahan baku yang beraneka ragam tersebut dengan upaya meningkatkan kadar glukosa semaksimal mungkin sebelum memasuki tahap fermentasi. Kadar glukosa ditingkatkan dengan tujuan mengubah gula kompleks (polisakarida) menjadi gula sederhana. Tipe bahan baku yang digunakan untuk pembuatan bioetanol berpengaruh terhadap proses *pre-treatment*. Proses

fermentasi mengubah bahan baku glukosa menjadi alkohol dan residu karbon dioksida (Gambar 1). Pada proses tersebut dibutuhkan bantuan Khamir *S. cerevisiae* [39].



(Akhtara *et al.*, 2018)[38]

Gambar 1. Fermentasi etanol

Fermentasi etanol: Satu molekul glukosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) diubah menjadi dua molekul asam piruvat ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$) selama proses glikolisis. Asam piruvat selanjutnya didekarboksilasi menghasilkan dua molekul asetaldehida (CH_3CHO), yang direduksi menjadi etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

Selama proses tersebut dihasilkan 2 molekul ATP dan satu molekul glukosa yang diubah menjadi dua molekul etanol dan dua molekul karbon dioksida (CO₂).

Kadar alkohol maksimal yang diperoleh pada proses fermentasi berkisar 7–9% (15% jika menggunakan strain khamir yang paling toleran terhadap alkohol). Proses penyulingan (*distillation*) dan dehidrasi (*dehydration*) dapat meningkatkan kadar etanol hingga mencapai *Fuel Grade Ethanol* (FGE) 99,5%. Kadar etanol tersebut tidak dapat ditingkatkan lagi karena larutan etanol-air bersifat *azeotrope* [37].

Hadirin yang kami hormati

Fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain

1) Kadar gula

Pertumbuhan dan aktivitas fermentasi pada khamir dipengaruhi kadar gula, apabila konsentrasi gula pada bahan tersebut tinggi akan berefek negatif bagi khamir.

Apabila terlalu pekat, aktivitas enzim akan terhambat, karena sudah tidak tersedia enzim lagi yang mengikat substrat, sehingga waktu fermentasi menjadi lambat, di samping itu terdapat sisa gula yang tidak terpakai dan jika terlalu encer maka hasilnya berkadar etanol rendah. Kadar glukosa yang baik berkisar 10–18%.

2) Nilai keasaman

Kecepatan fermentasi dipengaruhi pH, khamir *S. cerevisiae* mempunyai pH optimum berkisar pH 4,3-4,7, tetapi secara umum khamir tumbuh baik pada pH 3-6, apabila pH media di bawah 3, maka kecepatan fermentasi akan menurun. Pada pH yang lebih tinggi, adaptasi khamir lebih rendah dan aktivitas fermentasinya juga meningkat, dan berpengaruh juga pada pembentukan produk samping. Kondisi asam dapat menyebabkan terjadinya selektivitas populasi mikroorganisme [40].

3) Suhu

Suhu memengaruhi aktivitas enzim khamir dan secara tidak langsung memengaruhi hasil etanol karena adanya penguapan. Kecepatan fermentasi bertambah sesuai dengan kenaikan suhu.

Suhu optimum umumnya 27–32°C. Pada 27°C etanol hilang menguap 0,83%, pada 32°C sebesar 1,66%. Khamir *S. cerevisiae* mempunyai suhu maksimal sekitar 40–50 °C dengan suhu minimum 0 °C. Pada interval 15-30 °C, proses fermentasi menunjukkan gejala bahwa fermentasi semakin cepat berlangsung apabila semakin tinggi suhunya.

4) Nutrien

Pertumbuhan khamir memerlukan nutrien yang cukup untuk tambahan makanan. Sebagai contoh nutrien yang diperlukan khamir antara lain garam ammonium (NH_4Cl) dan garam *phosphate* (pupuk TSP).

5) Aerasi

Oksigen diperlukan untuk pertumbuhan khamir, untuk pertumbuhan dinding sel khamir, tetapi tidak diperlukan dalam proses fermentasi etanol oleh khamir, karena proses fermentasi etanol bersifat anaerob atau tanpa oksigen.

6) Waktu

Khamir umumnya memerlukan waktu fermentasi berkisar 7 hari atau lebih, tetapi hal itu bergantung pada suhu, kadar gula, dan faktor-faktor lain [40].

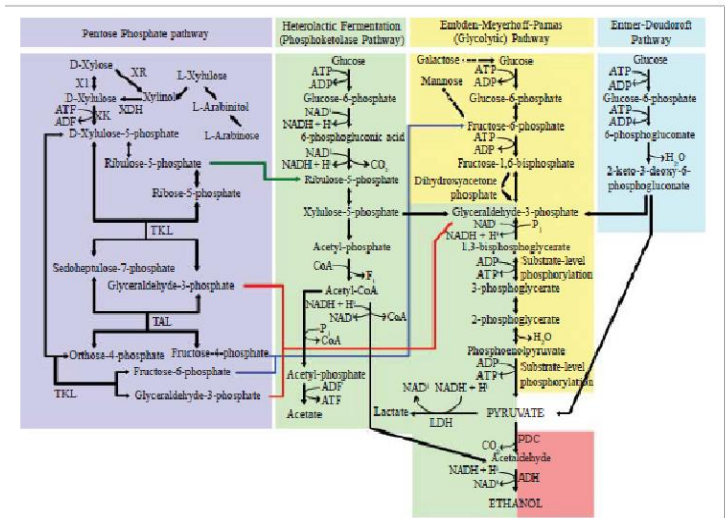
Hadirin yang kami hormati

Jalur Metabolisme Etanol pada Mikroorganisme

Di dalam sel mikroorganisme, gula yang dapat difermentasi diubah menjadi senyawa antara (*intermediate*) piruvat, melalui tiga siklus utama, yaitu Emden-Meyerhoff-Parnas (EMP), Entner-Doudoroff (ED), dan siklus pentosa fosfat (Gambar 2). 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 [41]. 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 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 [41]. Meskipun demikian, kedua mikroorganisme tersebut mengandung siklus homoetanol yang sangat efisien, yang mengubah piruvat menjadi asetaldehida dengan menggunakan piruvat dekarboksilase (pdc), selanjutnya menjadi etanol dengan menggunakan alkohol dehidrogenase (adh) (Gambar 2).

Sebagian besar bakteri mempunyai siklus EMP dan pentosa fosfat (atau heksosa monofosfat), meskipun beberapa di antaranya menggunakan siklus EMP daripada siklus ED. Perbedaan yang nyata dari siklus pentosa fosfat jika bekerja simultan dengan siklus EMP atau ED adalah pada senyawa antaranya (fruktosa-6-fosfat dan gliseraldehida-3-fosfat) dari katabolisme gula pentosa dari siklus pentosa fosfat dapat masuk ke siklus EMP dan ED, yang kemudian diubah menjadi piruvat (Gambar 2). Mikroorganisme yang mempunyai pentosa fosfat dan siklus EMP atau ED dapat menggunakan gula pentosa dan heksosa. Di samping tiga siklus utama, beberapa bakteri juga memfermentasi gula menjadi etanol dan CO₂ melalui siklus fermentasi heterolaktat (atau fosfoketolase). Organisme yang bersifat homolaktat (seperti bakteri asam laktat) menghasilkan piruvat melalui siklus EMP dan sebagian besar mereduksinya menjadi asam laktat dengan menggunakan laktat dehidrogenase (LDH). Organisme yang bersifat heterolaktat (seperti *Bacillus*) menghasilkan xilulosa-5-fosfat mengubah senyawa antara pentosa terfosforilasi ini menjadi asam laktat dan etanol (melalui piruvat) (Gambar 2) [41]. Siklus heterolaktat ini bersama dengan siklus ED menghasilkan 1 mol ATP per 1 mol glukosa yang digunakan.



(Dimodifikasi dari [41], [42])

Gambar 2. Jalur metabolisme etanol

Hadirin yang kami hormati

Salah satu bahan untuk pembuatan bietanol adalah Nira Nira

Bunga tanaman aren, kelapa, dan lontar menghasilkan getah manis yang disebut nira. Nira tersebut mengandung gula berkisar 7,5-20,0%. Nira diperoleh dengan cara menyadap bunga tanaman aren, kelapa dan lontar yang pucuknya belum membuka. Nira biasa dimanfaatkan sebagai minuman segar dengan cara langsung maupun dibuat sirup. Nira kelapa biasa dibuat gula merah dan gula semut [43]. Faktor yang memengaruhi komposisi nira antara lain umur tanaman, varietas tanaman, kesehatan tanaman, keadaan tanah, iklim, pemupukan, dan pengairan. Komposisi nira umumnya terdiri atas air, gula reduksi, sukrosa, dan bahan organik serta bahan anorganik. Air dalam nira merupakan bagian yang terbanyak antara 75-90%, sukrosa terbanyak berkisar 12,30-17,40%, gula reduksi antara 0,50-1,00%, dan sisanya merupakan senyawa

organik serta anorganik. Bahan organik terdiri dari karbohidrat (tidak termasuk gula), protein, asam organik, asam amino, zat warna, dan lemak. Bahan anorganik terdiri dari garam mineral, gula reduksi terdiri atas heksosa, glukosa, dan fruktosa, serta mannosa dalam jumlah yang sedikit sekali [44].

Nira mudah mengalami fermentasi, karena mengandung khamir liar yang sangat aktif. Bila nira terlambat dimasak, biasanya warna nira berubah menjadi keruh dan kekuning-kuningan, rasanya masam, dan baunya menyengat. Hal ini disebabkan terjadi pemecahan sukrosa menjadi gula reduksi. Proses ini membutuhkan etanol, sehingga etanol yang diperoleh menjadi berkurang. Kerusakan nira ditandai oleh penurunan pH disebabkan adanya perombakan gula menjadi asam organik oleh mikroorganisme seperti khamir (*Saccharomyces* sp.) serta bakteri *Acetobacter* sp. Nira sangat mudah terkontaminasi karena mengandung nutrisi yang lengkap seperti gula, protein, lemak, dan mineral yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroorganisme [44]. Untuk memperoleh gula yang baik maka harus dilakukan proses penghambatan terhadap kegiatan mikroorganisme.

Tanaman Penghasil Nira

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya hasil pertanian, salah satunya adalah tanaman perkebunan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Salah satu komoditas tersebut adalah Nira. Nira merupakan cairan atau getah yang diperoleh dengan cara penyadapan dari pohon keluarga palmae, 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 palma. Nira aren lebih segar, lebih jernih, dan sedikit lebih kental jika dibandingkan dengan nira kelapa segar. Nira aren segar sampai kini masih digunakan untuk membuat adonan di perusahaan roti atau jamu tradisional [23]

Aren (Arenga pinnata Merr).

Aren adalah salah satu keluarga palmae yang tumbuh pada daerah dengan ketinggian 0-1.500 meter di atas permukaan laut. Tanaman aren merupakan tanaman yang berguna bagi manusia, karena hampir semua bagian dari tanaman ini bisa dimanfaatkan, baik untuk makanan ataupun bahan baku industri dan energi terbarukan. Aren mempunyai potensi sebagai penghasil pangan dan tanaman konservasi serta utamanya sebagai sumber bioenergi yang ramah lingkungan. Pohon aren bila disadap terus-menerus selama 3-5 tahun akan menghasilkan rata-rata 15 liter nira/hari dengan rendemen gula berkisar 12%. Petani mempunyai kemampuan menyadap aren rata-rata 15 pohon/orang/hari, sehingga rata-rata 225 liter/hari nira dipanen oleh setiap petani dan dapat menghasilkan etanol berkadar 80% sekitar 19 liter/hari atau 570 liter/bulan.

Kelapa (Cocos nucifera L.)

Jenis tanaman perkebunan yang dapat menghasilkan bahan bakar nabati adalah Kelapa. Kelapa mempunyai potensi lebih baik dibandingkan jenis tanaman perkebunan lainnya. Dengan menggunakan kompor bertekanan yang sesuai dapat diperoleh minyak murni sebagai pengganti minyak tanah. Tanaman kelapa di setiap bagian tubuhnya dapat dimanfaatkan untuk bermacam-macam kegunaan antara lain sebagai bahan perabotan, makanan, minuman, hiasan, dan bahan bakar. Dua negara produsen kelapa terbesar di dunia adalah Indonesia dan Filipina dengan luas area masing-masing 3,7 juta ha dan 3,1 juta ha. Komoditas yang sangat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut berdasarkan luas area tersebut salah satunya nira kelapa yang memiliki potensi besar untuk produk pangan seperti gula semut, gula merah dan lain-lain, tetapi juga dapat dikembangkan sebagai salah satu penganekaragaman produk non pangan yaitu penggunaannya sebagai bahan bakar nabati.

Pohon kelapa juga secara tradisional dieksploitasi untuk nira yang mengandung terutama sukrosa. Salah satu contoh nira kelapa dari Malang, Jawa Timur, mengandung 70,85% sukrosa, 3,00%

glukosa dan 2,92% fruktosa [23]. Nira kelapa adalah bahan baku untuk berbagai produk, misalnya sirup kelapa, jaggery kelapa, madu kelapa, permen kelapa, permen coklat dan item makanan ringan, molase, cuka kelapa, minuman ringan nira, kue nira, coklat nira, dan *neera sweet* [45]. Nira kelapa memiliki sifat sangat cepat terfermentasi sehingga kurang menguntungkan untuk diolah menjadi gula merah. Potensi produksi nira kelapa adalah 360.000 s/d 720.000 Liter/tahun/ha. Kondisi ini menambah besarnya kesempatan pemanfaatan nira kelapa untuk keperluan lain yaitu sebagai sumber BBN (Bahan Bakar Nabati)[18].

Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb)

Indonesia memiliki potensi hutan nipah terluas di dunia dengan luas 700.000 hektar [46]. Nipah adalah sejenis pohon palma yang tumbuh di daerah pasang-surut air laut atau lingkungan hutan bakau. Batang pohon nipah membentuk rimpang yang terendam oleh lumpur. Nipah merupakan tanaman monokotil mempunyai akar serabut yang dengan panjang 13 m. Anak daun dengan panjang 100 cm dan lebar daun 4-7 cm. Daunnya yang masih muda berwarna hijau, sedangkan yang sudah tua berwarna kuning. Banyaknya anak daun dalam tiap tandan mencapai 25-100 helai [20]. 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. Pohon nipah menghasilkan nira per pohon per hari 0,4 sampai 1,2 L dengan kadar gula bervariasi dari 15% hingga 21% (b/b) [46]. Pengaturan waktu untuk penyadapan sangat penting. Nira biasanya disadap selama 38 hingga 63 hari per musim penyadapan yang sama dengan 2 atau 3 siklus dan membuat penyadapan hanya dapat dilakukan dari 80 hingga 180 hari per tahun. Kurniawan *et al.* (2018) [23] melaporkan bahwa nipah dapat disadap hingga 100 hari per tahun untuk masa hidup lebih dari 50 tahun, menghasilkan maksimum 1,3 L/hari per pohon nira.

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 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). Nira segar manis, bening, dengan pH hampir netral. Nira tersebut steril (bebas dari mikroorganisme) mengalir di perbungaan lontar. Namun, dapat juga ditemukan mikroorganisme dalam nira yang berasal dari lingkungan selama proses pengumpulan. Mikroorganisme yang ditemukan biasanya karena prosedur penyadapan yang kurang bersih. Akibatnya, terdapat pertumbuhan mikroorganisme di nira. Kontaminasi lebih lanjut pada nira terjadi ketika peralatan tidak sepenuhnya dibersihkan dan disterilkan, terutama selama musim panas, yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang cepat. Peningkatan suhu mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang cepat, sehingga meningkatkan populasinya lebih cepat. Mikroorganisme menggunakan gula dalam nira sebagai sumber energi. 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 [21].

Kualitas nira *B. flabellifer* bervariasi bergantung pada karakteristik genetik dan hasil metabolisme pohon, faktor lingkungan, waktu pengumpulan, mikroorganisme, kebersihan pribadi dan peralatan sanitasi. Mikroorganisme mungkin menjadi faktor signifikan pada kualitas nira aren karena mereka menggunakan gula sebagai substrat untuk menghasilkan asam organik dan etanol. Asam-asam organik ini menyebabkan reaksi pengubahan etanol memiliki rasa nira yang tidak enak [23].

Hadirin yang kami hormati

Dalam memproduksi bioetanol ini diperlukan peran gen yaitu gen *pdc* (piruvat decarboksilase) dan *adh* (alcohol dehydrogenase). Gen yang berperan pada produksi etanol adalah gen *pdc* dan *adh* yang keberadaannya dalam sel khamir perlu dilakukan identifikasi. Proses identifikasi daerah genom DNA yang mengkode protein didefinisikan sebagai prediksi gen atau temuan gen. Temuan gen adalah salah satu proses paling signifikan dalam memahami dan menganalisis genom organisme setelah diurutkan [48]. Alkohol dehidrogenase (*adh*) yang mengkatalisis interkonversi antara asetaldehid dan etanol, memainkan peran sentral dalam produksi dan asimilasi etanol. Selain itu, karena NAD (H) atau NADP (H) ikut serta dalam reaksi, *adh* terlibat dalam mekanisme umum keseimbangan kofaktor. Alkohol dehidrogenase khamir termasuk dalam rantai panjang grup I (sekitar 350 residu per subunit) enzim yang bergantung pada Zn dari mikrobial NAD- atau NADP-*dependent dehydrogenases*. Meskipun sekuen nukleotida dan asam amino primer dari *adh* khamir sangat dilestarikan, anggota, fungsi fisiologis dan regulasi metabolisme sistem *adh* bervariasi di antara spesies khamir yang berbeda. Selain itu, hanya satu atau dua gen *adh* esensial yang diekspresikan dan bertanggung jawab untuk pembentukan etanol dan asimilasi di sebagian besar khamir selama metabolisme glukosa atau xilosa. Dalam *S. cerevisiae*, *Sc adh 1* mengkodekan enzim yang bertanggung jawab untuk pembuatan etanol, dan diekspresikan menjadi glukosa dalam jumlah banyak. *Saccharomyces cerevisiae Sc adh2* mengkodekan enzim yang mengubah etanol menjadi asetaldehid, dan secara negatif diatur oleh glukosa. Enzim *adh 1* dari *Pichia stipitis*, khamir yang memfermentasi xilosa alami untuk produksi etanol, mengkode *adh* utama dengan kedua fermentatif dan fungsi asimilasi, dan diinduksi oleh keterbatasan oksigen. *Pichia stipitis, Ps adh 2* tidak diekspresikan dalam kondisi aerobik atau anaerob, kecuali *Ps adh1* terganggu [28].

Pyruvate decarboxylase (*pdc*) adalah enzim yang bertanggung jawab untuk dekarboksilasi non-oksidatif dari piruvat menjadi asetaldehid dan karbon dioksida. Meskipun tersebar luas pada

tumbuhan dan di antara kelompok *Ascomycetes*, *pdh* relatif jarang pada prokariota (Zyl *et al.*, 2014). Enzim *pdh* pertama kali terdeteksi dalam khamir fermentasi pada tahun 1911 oleh Neuberg dan Karzag, dan beberapa gen *pdh* terdapat dalam *S. cerevisiae*. Enzim *pdh* yang aktif secara katalitik adalah tetramer yang terdiri dari dua dimer. Enzim hanya berfungsi dengan kofaktor tiamin pirofosfat (TPP) bersama dengan ion logam Mg^{2+} . Keempat subunit itu identik dan memiliki massa molekul relatif kira-kira 60 kDa. Enzim *pdh* pada khamir diaktifkan oleh substrat, yaitu piruvat, tetapi fosfat anorganik adalah inhibitor kompetitif dari enzim. Namun, pemberian glukosa sementara akan menyebabkan pengurangan langsung konsentrasi fosfat intraselular. Sifat-sifat gen *pdh* ini menunjukkan bahwa piruvat dalam khamir *Crabtree*-positif akan dimetabolisasikan secara istimewa melalui piruvat dekarboksilase selama pemberian kelebihan glukosa [50].

Enzim yang Berperan pada Produksi Etanol

Enzim utama yang terlibat dalam metabolisme alkohol adalah *alcohol dehydrogenase* (*adh*) dan *aldehyde dehydrogenase* (*aldh*). Kedua enzim muncul dalam beberapa bentuk yang dikodekan oleh gen yang berbeda. Para peneliti sampai saat ini terutama telah mempelajari varian pengkodean dalam gen *adh 1c*, dan *aldh 2* yang terkait dengan sifat kinetik yang diubah dari enzim yang dihasilkan. Misalnya, alel *adh 1b* dan *adh 1c* tertentu menyandikan enzim *adh* aktif, menghasilkan konversi alkohol yang lebih cepat (misalnya etanol) menjadi asetaldehida [51].

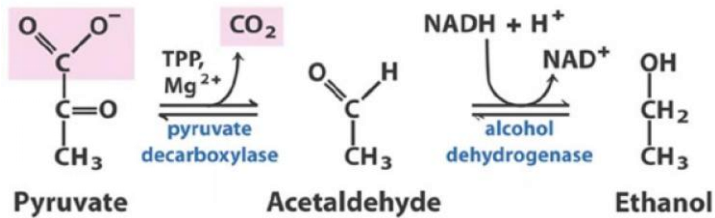
Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama substrat, suhu, keasaman, kofaktor dan inhibitor. Tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan keasaman berubah. Di luar suhu atau pH yang sesuai, enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau strukturnya akan mengalami kerusakan. Hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan fungsinya. Kerja enzim juga dipengaruhi oleh molekul lain. Inhibitor adalah molekul yang menurunkan aktivitas

enzim, sedangkan aktivator adalah yang meningkatkan aktivitas enzim. Banyak obat dan racun adalah inhibitor enzim [40].

Penggunaan enzim pada hidrolisis merupakan pengembangan teknologi bioproses yang diyakini sebagai suatu proses yang lebih ramah lingkungan [52]. Pemanfaatan enzim sebagai penghidrolisis bergantung pada substrat yang menjadi prioritas. Penelitian menggunakan jamur pelapuk putih telah dilakukan untuk menggantikan asam pada perlakuan awal kemudian dengan menggunakan enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa menjadi glukosa, dan selanjutnya melakukan fermentasi untuk mengkonversi menjadi etanol dengan menggunakan *S. cerevisiae* [53].

Enzim Piruvat dekarboksilase (pdc)

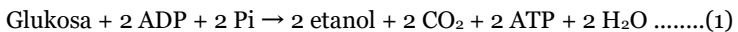
Piruvat dekarboksilase adalah enzim dari golongan *Liase*. Enzim ini mengkatalisis reaksi dekarboksilasi asam piruvat menjadi asetaldehid dan karbondioksida. Enzim ini banyak ditemukan dalam tanaman, jamur (fungi), dan bakteri. Piruvat dekarboksilase adalah enzim homotetrametri (EC 4.1.1.1) yang mengkatalisis reaksi dekarboksilasi asam piruvat menjadi asetaldehid dan karbondioksida. Enzim ini juga biasa disebut asam 2-okso karboksilase dan asam keto karboksilase. Enzim ini diketahui bersifat sangat stabil dan sangat mudah dimurnikan. Dalam kondisi anaerob, enzim ini merupakan bagian dalam proses fermentasi, terutama dari khamir Genus *Saccharomyces*, untuk menghasilkan etanol melalui fermentasi. Piruvat dekarboksilase memulai proses ini dengan mengkonversi piruvat menjadi asetaldehid dan karbondioksida seperti pada Gambar 3 [7].



Gambar 3. Reaksi perubahan piruvat menjadi etanol

Enzim Alkohol dehidrogenase (adh)

Alkohol dehidrogenase (adh) termasuk ke dalam kelas enzim oksidoreduktase dengan sub-kelas dehidrogenase, dengan kode EC 1.1.1.1. Alkohol dehidrogenase terdapat pada hampir setiap organisme. Pada khamir, tanaman, dan bakteri, alkohol dehidrogenase mengkatalisis reaksi kebalikannya, yaitu mensintesis alkohol sebagai bagian dari proses fermentasi. Enzim adh yang paling aktif adalah yang berasal dari khamir. Alkohol dehidrogenase pada *S. cerevisiae* merupakan protein tetramer, masing-masing subunit mengandung satu atom zinc. Pada tiap subunit, ada dua sisi aktif gugus sulfidril yang berjauhan. Kedua gugus ini dapat dibedakan berdasarkan reaktivitasnya terhadap iodoasetat dan butil isosianat. Residu histidin memiliki peranan penting dalam sisi aktif (Demir *et al.*, 2017). Pada bakteri dan khamir, adh akan memfermentasikan glukosa menjadi etanol dan CO₂, sesuai dengan reaksi kimia 1.

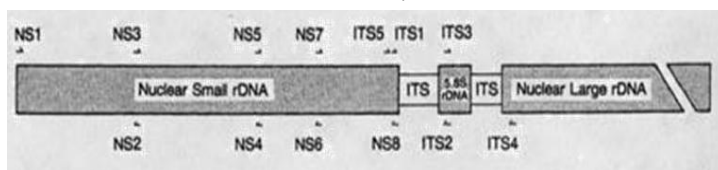


Glukosa melalui proses glikolisis akan menghasilkan piruvat yang kemudian diubah menjadi asetaldehid dan CO₂. Asetaldehid inilah yang diubah oleh alkohol dehidrogenase menjadi etanol [7].

Hadirin yang kami hormati

Beragam jenis khamir telah terlibat dalam produk fermentasi pangan tradisional dan khamir tersebut mampu memengaruhi karakteristik dari produk tersebut. Untuk mengidentifikasi keberadaan khamir dalam suatu produk dapat dilakukan secara

molekular meliputi tahap ekstraksi DNA, Amplifikasi 18S rDNA, purifikasi produk PCR, *Cycle sequencing*, dan produk *cycle*. Amplikon 18S rDNA yang terdiri dari hampir seluruh gen 18S rRNA (nukleotida 22-1771; lokasi nukleotida ini merujuk pada *S. cerevisiae*) yang diproduksi menggunakan primer NS-1 (5P-GTAGTCATATGCTTGTCTC) (*Fowerd*) dan NS-8 (5P-TCCGCAGGTGACC) (*Reverse*).



Sumber: [55]

Gambar 4. Lokasi dari primer NS1 sampai NS 8 pada *Nuclear Small rDNA*

Inhibitor Enzim *pdc* dan *adh*

Inhibitor merupakan senyawa yang menghambat aktivitas enzim. Inhibitor ini digunakan untuk meningkatkan produksi metabolit target dan menekan produk yang tidak diinginkan. Penghambatan enzim dapat disebabkan oleh sejumlah zat seperti bahan kimia, pestisida, herbisida termasuk molekul obat. Dengan demikian, laju aktivitas enzim dapat benar-benar dihentikan (Demir *et al.*, 2017). Ada beberapa studi tentang mekanisme penghambatan *adh* dari berbagai sumber yang diperoleh. Sebagai contoh, beberapa laporan menunjukkan bahwa 2,2,2-trifluoroethanol (Taber, 1998), senyawa tiol (pirazol) [56] dan 4,4 'dithiodipyridine [57] [57] menghambat alkohol dehidrogenase. Dalam studi lain, katekin, dan flavonoid dari daun *Camellia sinensis* menunjukkan aktivitas penghambatan alkohol dehydrogenase (*adh*) khamir dalam kisaran IC₅₀ 8,0–70,3 μM [58]. Selain itu, Lee *et al.* (2013) [59] mempelajari penghambatan asetaminofen pada isoenzim *adh* manusia.

Enzim *pdc* dari *Saccharomyces cerevisiae* kerjanya dihambat oleh aspartat, mode penghambatan terjadi melalui efek antagonis pada aktivasi oleh turunan asetil CoA, sedangkan *pdc* pada *Rhizopus arrhizus* kerjanya dihambat oleh aspartat dan glutamate [60].

Pemurnian Enzim

Pemurnian enzim sangat penting untuk memperoleh pengetahuan tentang sifat struktural dan fungsional serta meramalkan aplikasinya (Baljit *et al.*, 2014). Pemurnian dan pemisahan enzim umumnya didasarkan pada kelarutan, ukuran, polaritas, dan afinitas pengikatan. Pemurnian artinya membebaskan suatu bahan dari pengotor atau bahan-bahan lain yang tidak diinginkan (Demir *et al.*, 2017). Pemilihan metode pemisahan yang tepat mempertimbangkan penggunaan enzim untuk skala produksi, *timeline*, dan sifat-sifat enzim [61].

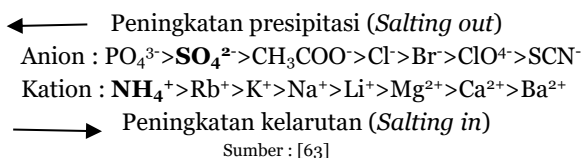
Pada pemurnian enzim, secara umum diawali dengan proses pemekatan enzim. Enzim dapat dipekatkan dengan dua metode yaitu preparatif (penyiapan) dan analitik. Metode preparatif bertujuan untuk mempertahankan aktivitas protein seperti metode dengan pengendapan dengan senyawa organik, ultrafiltrasi, liofilisasi, pengendapan garam dan dialisis [62]. Berikut ini agen yang sering digunakan dalam presipitasi protein (Tabel 1).

Tabel 1. Agen presipitasi protein

Agen	Tipe	Karakteristik
Poliethilen glikol	Pelarut	Bermuatan, tidak mudah terbakar
Aseton	Pelarut	Berisiko untuk terdenaturasi/kehilangan aktivitas, mudah terbakar
Etanol	Pelarut	Berisiko untuk terdenaturasi, mudah terbakar
Ammonium sulfat	Garam	Stabil, mudah larut
Sodium sulfat	Garam	Stabil, mudah larut

Sumber: [62]

Pemurnian enzim dengan cara pemekatan menggunakan garam berdasarkan prinsip *Salting out*. Pada konsentrasi garam yang tinggi ($>0,15$ M), kelarutan protein menurun dan menyebabkan protein mengendap, kejadian ini disebut *Salting out* [63]. Pada saat garam ditambahkan ke larutan enzim, tegangan permukaan air meningkat, menghasilkan interaksi hidrofobik yang meningkat antara protein enzim dan air. Protein merespon situasi ini dengan menurunkan luas permukaannya dalam upaya untuk meminimalkan kontak dengan pelarut air (Timasheff & Arakawa, 1997).

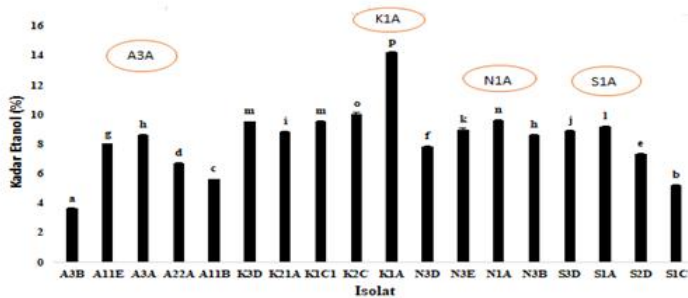


Gambar 5. Ion-ion pembentuk garam

Garam ammonium sulfat mempunyai kelarutan yang tinggi di dalam air (*Salting in*) dibandingkan garam fosfat karena ammonium sulfat mempunyai kekuatan ionik yang besar (Gambar 5), dan pada konsentrasi garam yang tinggi kekuatan ionik garam ammonium sulfat semakin kuat sehingga lebih mudah mengikat air dan protein akan mengendap/presipitasi dan disebut *Salting out*. Protein hasil pemekatan tersebut masih mengandung kadar garam yang tinggi. Hal tersebut dapat dihilangkan dengan cara dialisis protein enzim di dalam larutan bufer [65]. Protein enzim memiliki berat molekul yang relatif tinggi, pemisahan berdasarkan ukuran atau massa molekul mendukung pemurnian enzim. Dialisis adalah metode yang umum menggunakan membran semipermeabel digunakan untuk menghilangkan garam, molekul organik kecil, dan peptida. Proses dialisis enzim membutuhkan volume dialisat yang banyak, cairan di luar kantong dialisis, dan jangka waktu beberapa jam atau hari untuk mencapai kesetimbangan. Gerak dialisis arus balik juga dapat digunakan, larutan dialisis dialirkan ke satu arah, dan dialisat dalam arah berlawanan di luar membran [63]

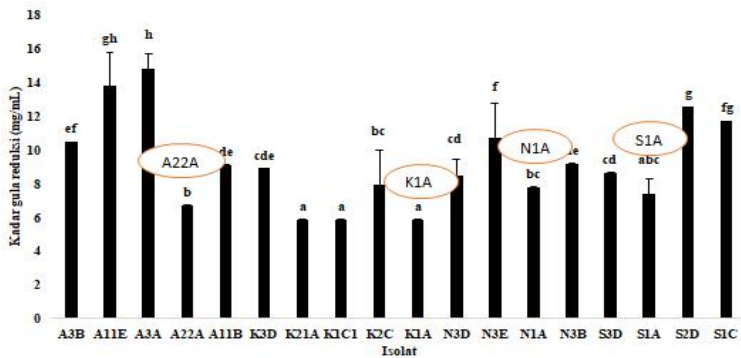
Hadirin yang kami hormati

Dari 4 sumber Nira penghasil bioetanol didapatkan Isolat-isolat Khamir yang berpotensi dalam Menghasilkan Etanol Ada delapan belas isolat khamir yang didapatkan dan diuji potensinya dalam menghasilkan etanol dengan menggunakan media nira kelapa tanpa pengenceran dalam kondisi steril dengan hasil kadar etanol nira kelapa paling tinggi (4,63%). Isolat penghasil etanol yang potensinya tertinggi dari nira Kelapa, Nipah, Siwalan, dan Aren secara berurutan adalah K1A (14,2%), N1A (9,6%), S1A (9,2%), dan A3A (8,59%) (Gambar 6). Isolat dengan kadar gula reduksi terendah setelah fermentasi secara berurutan adalah K1A (5,86 mg/mL), A22A (6,73 mg/mL), S1A (7,36 mg/mL), dan N1A (7,8 mg/mL) (Gambar 7). Isolat dengan jumlah sel khamir tinggi setelah fermentasi secara berurutan adalah S1A ($124,31 \times 10^3$ sel/mL), K3D ($66,46 \times 10^3$ sel/mL), N1A ($28,91 \times 10^3$ sel/mL), dan A3A ($25,69 \times 10^3$ sel/mL) (Gambar 8). Berdasar kadar etanol, kadar gula, dan densitas sel terlihat bahwa terdapat korelasi bahwa isolat potensial (khususnya K1A, N1A, dan S1A) dengan densitas sel yang tinggi menghasilkan etanol yang paling tinggi juga dan berdampak pada kadar gula yang rendah, karena gula tersebut diubah menjadi etanol. Hal tersebut sesuai pernyataan Jasman *et al.* (2012) [25], bahwa beberapa isolat khamir mampu mengkonsumsi gula dan mengubahnya menjadi etanol saat fermentasi. Isolat dengan selisih pH awal fermentasi dan akhir fermentasi (6 hari) tertinggi secara berurutan adalah K1A (0,42), A3A (0,38), N3E (0,36), dan S2D (0,26) (Gambar 6).



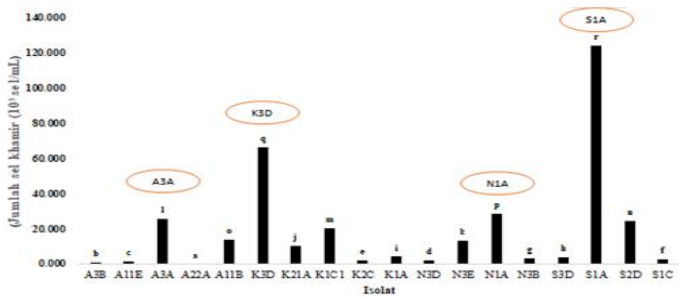
Gambar 6. Kadar etanol pada berbagai jenis isolat dengan waktu fermentasi 6 hari

Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan kadar etanol tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarisolat



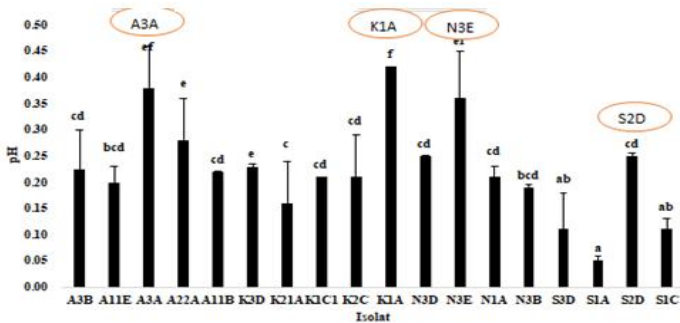
Gambar 7. Kadar gula reduksi pada berbagai jenis isolat dengan waktu fermentasi 6 hari

Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan kadar gula reduksi tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarisolat



Gambar 8. Jumlah sel khamir pada berbagai jeni isolate dengan waktu fermentasi 6 hari

Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan jumlah sel khamir tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarisolat



Gambar 9. Selisih pH awal dan akhir fermentasi (6 hari) pada berbagai jenis isolat

Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan pH tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarisolat

Isolat yang menghasilkan kadar etanol tertinggi yaitu K1A (dari kelapa). Hal ini mungkin disebabkan isolat K1A *indigenous* dari nira kelapa dan media fermentasi yang digunakan adalah nira kelapa, sehingga adaptasi dari isolat tersebut lebih cepat dibandingkan isolat N3E (dari nipah), A3A (dari aren) dan S1A (dari siwalan), sehingga isolat K1A dapat bekerja maksimal dalam mengubah glukosa

menjadi etanol Khamir *indigenus* nira siwalan dalam memfermentasi glukosa menjadi etanol bekerja lebih lambat terbukti kadar etanol yang dihasilkan oleh isolat S1A (9,2%) lebih rendah daripada isolat K1A (14,2%). Kadar gula reduksi isolat S1A (7,36 mg/mL) lebih tinggi daripada isolat K1A (5,86 mg/mL) yang menunjukkan bahwa proses fermentasi pada isolat K1A berjalan cepat dalam mengubah glukosa menjadi etanol, sehingga kadar gula reduksinya rendah karena digunakan oleh sel khamir dalam membentuk etanol. Hal tersebut juga didukung selisih pH di akhir fermentasi tertinggi pada isolat K1A (0,42), karena selama proses fermentasi terjadi penurunan pH. Hal tersebut sesuai pendapat Lin *et al.* (2010) bahwa pada akhir fermentasi etanol terjadi penurunan pH, yang disebabkan sumber nitrogen dikonversi menjadi NH_4^+ .

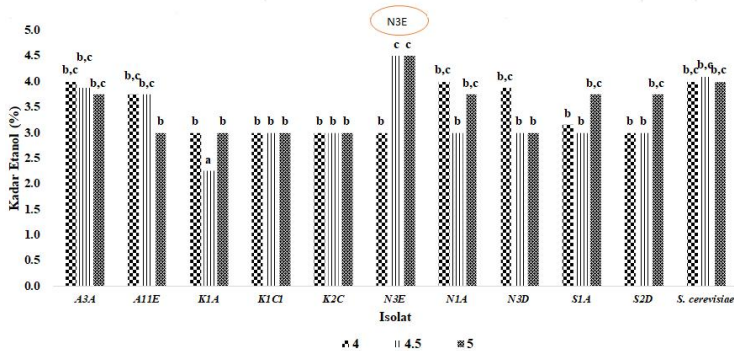
Media kultur isolat A3A (dari aren) pada akhir fermentasi mengandung gula reduksi dengan kadar tertinggi 14,79 mg/mL, tetapi jumlah selnya cenderung sedikit yaitu $25,69 \times 10^3$ sel/mL. Hal tersebut kemungkinan disebabkan isolat A3A *indigenus* dari aren memerlukan adaptasi yang lama di media nira kelapa, sehingga pertumbuhannya lambat dan jumlah sel khamirnya cenderung sedikit, proses pengubahan glukosa menjadi etanol lambat dan kadar etanol hasil fermentasi 8,59% lebih rendah daripada isolat K1A (14,2%).

Media kultur isolat S2D dengan kadar gula reduksi 12,55 mg/mL dan isolat N3E (10,75 mg/mL) dengan jumlah sel secara berurutan $24,94 \times 10^3$ sel/mL dan $13,63 \times 10^3$ sel/mL menghasilkan kadar etanol masing-masing 7,25% dan 8,98%, terlihat bahwa kadar etanol yang dihasilkan cenderung lebih rendah daripada isolat K2C (10%), K1C1 (9,5%), dan K3D (9,5%), yang masing-masing mempunyai kadar gula reduksi secara berurutan 5,99 mg/mL, 7,95 mg/mL dan 9,91 mg/mL. Hal tersebut mungkin disebabkan isolat K2C, K1C1, dan K3D *indigenus* nira kelapa, sehingga dapat beradaptasi dan bekerja dengan cepat mengubah glukosa menjadi etanol. Jasman *et al.* (2012)[25] menyatakan bahwa kemampuan masing-masing strain dalam mengonsumsi gula dan menghasilkan etanol berbeda karena perbedaan beberapa faktor seperti konsentrasi gula, konsentrasi etanol, dan suhu. Perbedaan respon

tersebut juga ditentukan oleh stabilitas genetik dan fisiologis masing-masing strain.

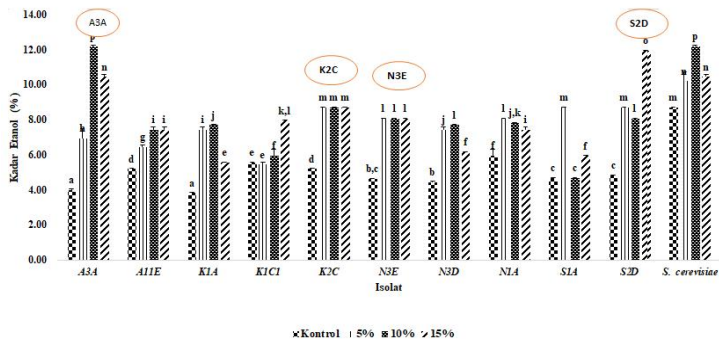
Hadirin yang kami hormati

Berdasar hasil skrining isolat penghasil etanol dengan menggunakan media nira kelapa dihasilkan 10 isolat terpilih (menghasilkan etanol tinggi), yaitu A3A, A11E (dari aren), K1A, K1C1, K2C (dari kelapa), N1A, N3D, N3E (dari nipah), dan S1A, S2D (dari Siwalan). Isolat terpilih tersebut dioptimasi potensinya dalam menghasilkan etanol dibandingkan dengan kontrol, yaitu *S. cerevisiae* dengan media air kelapa (yang diperoleh dari pasar di Malang dengan kadar gula 7,81 mg/mL). Optimasi dengan perlakuan pH (4; 4,5; dan 5), terlihat isolat yang paling unggul pada produksi etanol adalah N3E (dari nipah) dengan kadar etanol 4,5% dan optimum pada pH 4,5 dan 5. Kadar etanol tersebut lebih tinggi daripada *S. cerevisiae* (kontrol) (4,1%) (Gambar 10). Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat *indigenous* nira nipah dapat bekerja optimal dalam mengubah glukosa yang ada pada air kelapa menjadi etanol melebihi kerja *S. cerevisiae*. Menurut Piriya *et al.* (2012)[68] pH optimum untuk produksi etanol menggunakan *Pichia stipitis* sekitar 4,5-5,5, sedangkan menurut Tesfaw & Assefa (2014) [69] pH optimum untuk produksi etanol menggunakan *S. cerevisiae* sekitar 4,0-5,0.



Gambar 10. Kadar etanol isolat khamir *indigenus* berbagai nira pada variasi pH dengan suhu 27 °C dan konsentrasi glukosa 10%
Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan kadar etanol tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarperlakuan

Fermentasi pada konsentrasi gula 5%, 10%, dan 15% menunjukkan isolat A3A dari nira aren paling unggul dalam memproduksi etanol sebesar 12,25% pada konsentrasi gula 10% yang tidak berbeda dengan *S. cerevisiae* (Gambar 11). Menurut Zabed *et al.* (2014) [70] konsentrasi gula 12% optimal untuk produksi etanol oleh *Pichia stipitis*, tetapi *S. cerevisiae* optimal pada konsentrasi 9%. Peningkatan konsentrasi gula hingga konsentrasi tertentu menyebabkan laju fermentasi meningkat, tetapi konsentrasi gula yang tinggi menyebabkan terjadi plasmolisis pada sel khamir tersebut. Hal tersebut juga disebabkan enzim yang mengikat substrat sudah berikatan dengan semua substrat, sehingga laju fermentasi berhenti.

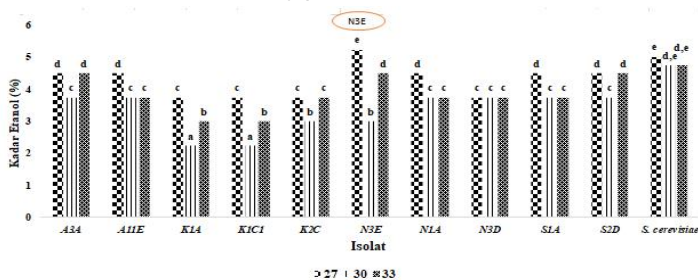


Gambar 11. Kadar etanol isolat khamir *indigenous* nira pada berbagai konsentrasi glukosa dengan suhu 27 °C dan pH 4,5

Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan kadar etanol tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarperlakuan

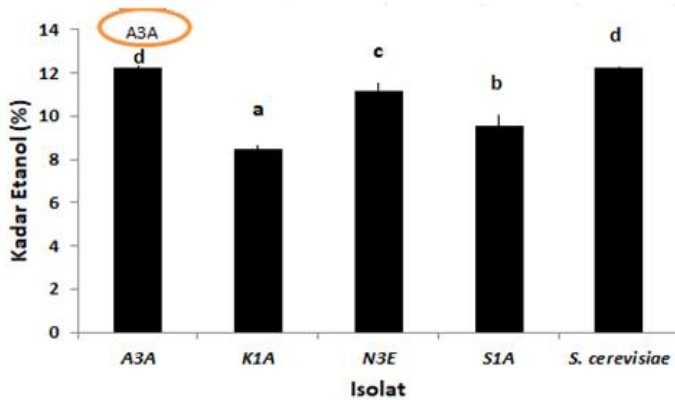
Fermentasi etanol pada suhu 27 °C, 30 °C, dan 33 °C menunjukkan bahwa isolat N3E (dari nira nipah) menghasilkan kadar etanol tertinggi 5,25% pada suhu 27 °C yang tidak berbeda dengan *S. cerevisiae* sebesar 5% (Gambar 12). Suhu merupakan salah satu parameter paling penting dalam produksi etanol karena hidrolisis enzimatis dan laju fermentasi glukosa bergantung pada suhu. Semakin tinggi suhu fermentasi, laju fermentasi semakin meningkat, sehingga produksi etanol juga meningkat, tetapi ada batasan untuk bioproses. Suhu yang lebih tinggi mungkin tidak mendukung pertumbuhan, sel-sel dapat mati, enzim dapat mengalami denaturasi dan laju pembentukan produk terhambat. Tingkat pertumbuhan mikroorganisme secara langsung dipengaruhi oleh suhu [71]. Suhu tinggi yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhan sel menjadi faktor stres bagi mikroorganisme [72]. Kisaran suhu ideal untuk fermentasi antara 20-35 °C. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki suhu optimal mendekati 30 °C sedangkan sel yang diimobilisasi memiliki suhu optimum yang sedikit lebih tinggi karena kemampuannya untuk mentransfer panas dari permukaan partikel ke dalam sel [73]. Selain itu, enzim yang mengatur aktivitas mikroorganisme dan proses fermentasi sensitif

terhadap suhu tinggi yang dapat mengubah sifat struktur tersiernya dan menonaktifkan enzim [74].



Gambar 12. Kadar etanol isolat khamir *indigenus* nira pada berbagai variasi suhu dengan konsentrasi glukosa 10% dan pH 4,5
Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan kadar etanol tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarperlakuan

Berdasar hasil optimasi produksi etanol dengan perlakuan pH, suhu, dan konsentrasi gula, menunjukkan kadar etanol tertinggi pada pH 4,5 dan 5, konsentrasi gula 10%, dan suhu 27 °C. Perlakuan berikutnya menguji isolat unggul yaitu A3A (dari nira aren), K1A (dari nira kelapa), N3E (dari nira nipah), dan S1A (dari nira siwalan) dengan perlakuan pH 4,5, konsentrasi gula 10%, dan suhu 27 °C. Isolat A3A dari nira aren potensinya paling tinggi menghasilkan etanol sebesar 12,25%, yang tidak berbeda dengan *S. cerevisiae* (kontrol) (Gambar 13). Isolat A3A dapat menghasilkan kadar etanol paling tinggi mungkin disebabkan isolat khamir tersebut dapat beradaptasi dengan kondisi fermentasi pH 4,5, konsentrasi gula 10%, dan suhu 27 °C, sehingga dapat mengubah gula dalam air kelapa menjadi etanol dengan kadar yang tinggi.



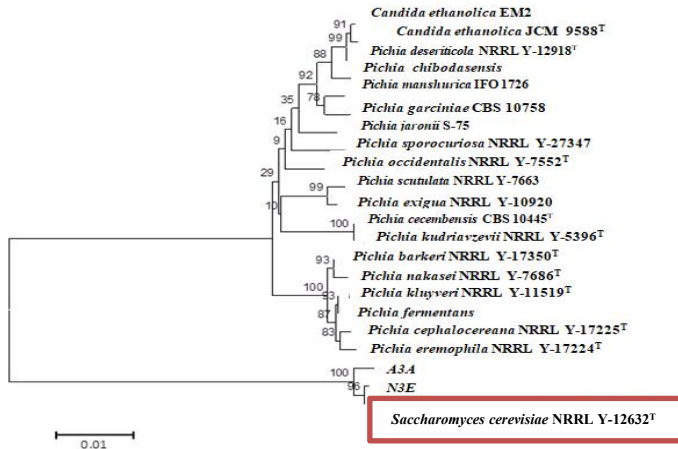
Gambar 13. Produksi etanol oleh isolat khamir pada konsentrasi glukosa 10%, pH 4,5, dan suhu 27 °C

Huruf yang sama di atas setiap histogram menunjukkan kadar etanol tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antarisolat

Hadirin yang kami hormati

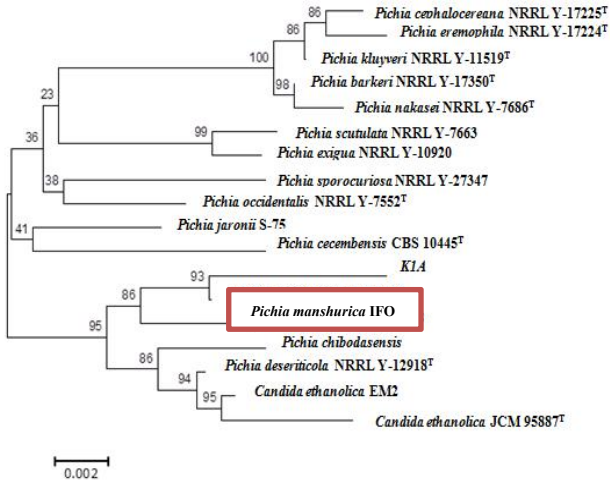
Spesies Khamir yang berpotensi Penghasil Bioetanol

Identifikasi secara molekular menggunakan sekuen 18S rDNA menunjukkan bahwa isolat A3A dan N3E mempunyai similaritas 99,99% dengan *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632^T (Gambar 14). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Udomsaksakul *et al.* (2018) [75] bahwa khamir *indigenus* nira kelapa yang berasal dari Samut-Songkram Thailand teridentifikasi sebagai Spesies *S. cerevisiae* NL010. Isolat K1A mempunyai similaritas 99,99% dengan *Pichia manshurica* IFO 10726 (Gambar 15). Madigal *et al.* (2019)[76] melaporkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pichia kudriavzevii* juga ditemukan pada nira *Nypa fruticans* dari Filipina.

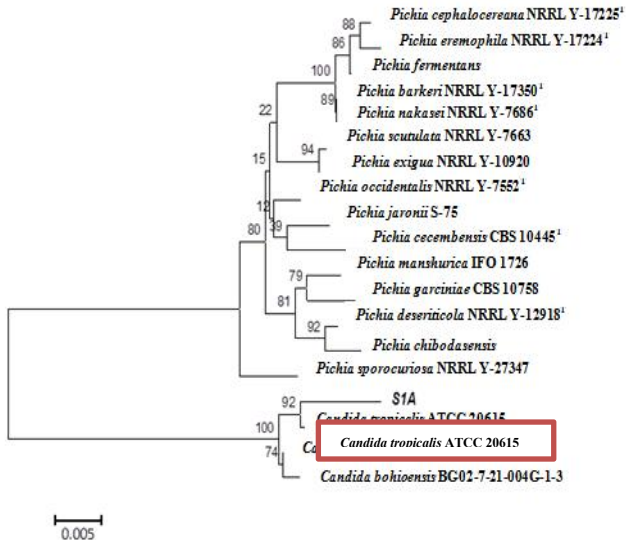


Gambar 14. Pohon filogeni isolat A3A dan N3E dengan khamir acuan berdasarkan sekuen 18S rDNA dengan algoritma *Likelihood* dengan *bootstrap* 1000

Isolat S1A mempunyai similaritas 99,99% dengan *Candida tropicalis* ATCC 20615 (Gambar 16). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Wiratno & Soleman (2018)[77] yang mengisolasi khamir *indigenous* nira siwalan dari Tuban Jawa Timur, mendapatkan khamir *C. tropicalis* mampu memproduksi etanol sebesar 14% dengan menggunakan glukosa 50 g/L. *Candida tropicalis* juga ditemukan pada nira *Borassus flabellifer* L. dari Thailand [78]. Nira *Borassus akeassii* dari Burkina Faso, Afrika Barat juga terdapat khamir *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida pararugosa* [79].



Gambar 15. Pohon filogeni isolat K1A dengan khamir acuan berdasarkan sekuen 18S rDNA dengan algoritma *Likelihood* dengan *bootstrap* 1000

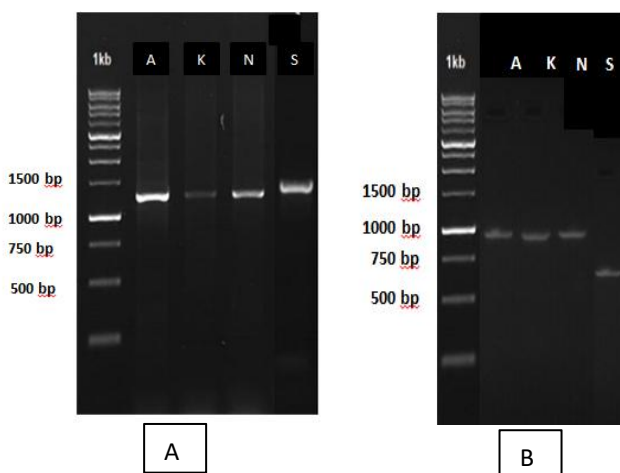


Gambar 16. Pohon filogeni isolat S1A dengan khamir acuan berdasarkan sekuen 18S rDNA dengan algoritma *Likelihood* dengan *bootstrap* 1000

Gen piruvat dekarboksilase (*pdc*) dan alkohol dehidrogenase (*adh*)

Gen *pdc*

Gen yang berperan dalam menyandi enzim-enzim penghasil etanol, antara lain *pdc* dan *adh*. Deteksi gen penyandi enzim *pdc* pada isolat A3A, K1A, N3E, dan S1A yang telah dilakukan menghasilkan profil pita berkisar 1.000–1.500 bp (Gambar 17). Gen *pdc* isolat A3A mempunyai nilai similaritas 99,92% dengan gen *pdc* isolat N3E, dan 99,01% dengan gen *pdc* isolat S1A serta 99,95% dengan gen *pdc1p Saccharomyces cerevisiae* VL3 chromosome XII. Gen *pdc* isolat N3E mempunyai nilai similaritas 99,92% dengan gen *pdc1p Saccharomyces cerevisiae* VL3 chromosome XII dan gen *pdc* isolat K1A mempunyai nilai similaritas 100% dengan gen *pdc1p Saccharomyces cerevisiae* VL3 chromosome XII (Gambar 18)

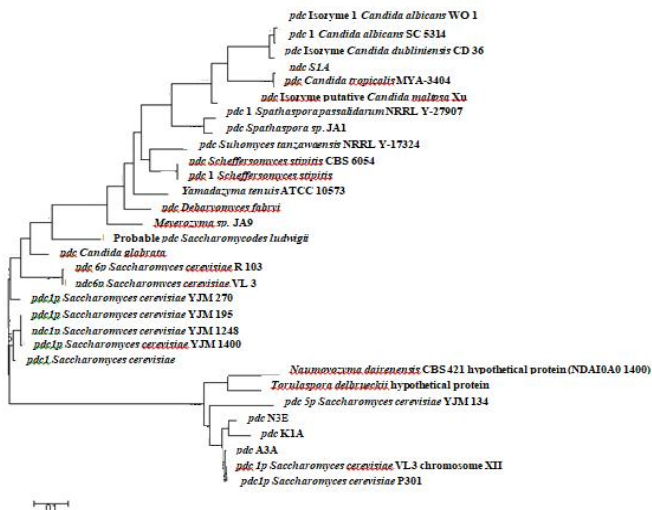


Gambar 17. Pita gen pengkode piruvat dekarboksilase (*pdc*) (A) dan alkohol dehidrogenase (*adh*) (B) isolat khamir A= A3A (aren), K=K1A (kelapa), N=N3E (nipah), dan S=S1A (siwalan)

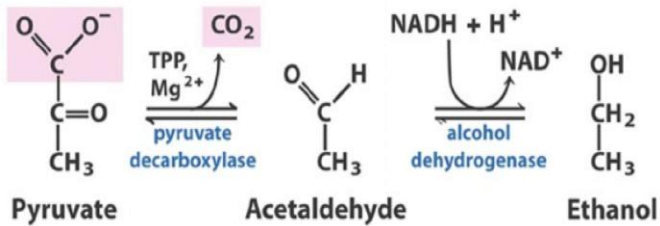
Pada identifikasi molekular dengan sekuen 18S rDNA, isolat K1A mempunyai nilai similaritas 99,99% dengan *Pichia manshurica* IFO 10726. Hal tersebut menunjukkan bahwa di dalam isolat K1A

mengandung gen *pdcp1* *Saccharomyces cerevisiae* VL3 chromosome XII, meskipun pada identifikasi molekular menunjukkan berkerabat dengan *Pichia manshurica* yang masih satu familia dengan *Saccharomyces cerevisiae* dan dapat memfermentasi glukosa menjadi etanol [80].

Pada identifikasi molekular dengan sekuen 18S rDNA, isolat A3A dan N3E mempunyai nilai similaritas 99,99% dengan *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632^T (Gambar 18). Menurut Vuralhan *et al.* (2003) [81] *Saccharomyces cerevisiae* mengandung tiga gen struktural (*pdcp1*, *pdcp5*, dan *pdcp6*) yang masing-masing dapat mengkodekan *pyruvate decarboxylase* aktif. *Pyruvate decarboxylase* adalah enzim yang mengandung *thiamine pyrophosphate* (TPP) yang bertanggung jawab untuk konversi piruvat menjadi asetaldehid. Piruvat adalah zat antara dalam metabolisme karbohidrat sentral dan dapat dikonversi menjadi asetaldehid (Gambar 19) [7].



Gambar 18. Pohon filogeni isolat A3A, K1A, N3E, S1A, dan isolat acuan berdasarkan similaritas sekuen gen *pdc* menggunakan algoritma *Likelihood* dengan *bootstrap* 1000



Sumber: [7]

Gambar 19. Skema perubahan piruvat menjadi asetaldehid oleh enzim *pdh*

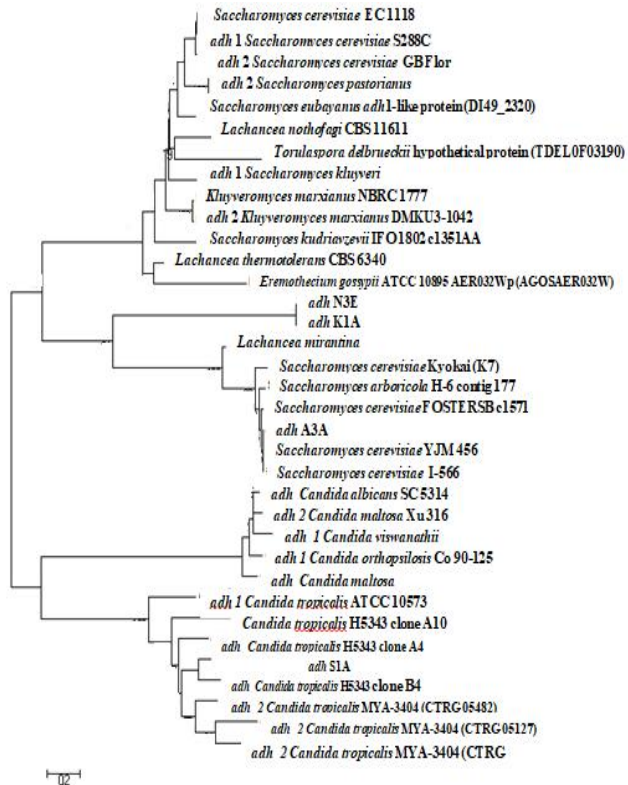
Gen *pdh* isolat S1A mempunyai nilai similaritas 99% dengan gen *pdh Candida tropicalis* MYA 3404 (Gambar 18). Identifikasi molekular berdasarkan sekuen 18S rDNA, isolat S1A mempunyai similaritas 99,99% dengan *Candida tropicalis* ATCC 20615 (Gambar 16). Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat S1A merupakan spesies *Candida tropicalis*. Menurut Eram & Ma (2013) [7] gen *pdh* ditemukan tersebar luas pada fungi dan tanaman tingkat tinggi, tetapi relatif jarang pada prokariota dan tidak diketahui pada hewan. Gen *pdh* ditemukan pada *S. cerevisiae*, *S. carlsbergensis* (juga dikenal sebagai *S. pastorianus*) dan *S. uvarum*, *Neurospora crassa*, anggota *Kluyveromyces*, antara lain meliputi *Aspergillus*, spesies *Hanseniaspora uvarum*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida glabrata*, dan *C. tropicalis*.

Gen *adh*

Alkohol dehidrogenase mengkatalisis interkonversi antara asetaldehida dan etanol serta memainkan peran sentral dalam produksi dan asimilasi etanol. Selain itu, NAD (H) atau NADP (H) ikut serta dalam reaksi, *adh* terlibat dalam mekanisme umum 'keseimbangan kofaktor' [28]. Profil pita gen penyandi enzim *adh* pada isolat A3A, K1A, N3E, dan S1A berkisar 500-1000 bp (Gambar 17). Gen *adh* pada isolat N3E mempunyai nilai similaritas 100% dengan gen *adh* pada isolat K1A dan mempunyai nilai similaritas 98,10% dengan gen *adh* pada isolat A3A dan *adh Saccharomyces cerevisiae* YJM 456 (Gambar 20). Pada identifikasi molekular berdasarkan sekuen 18S rDNA, isolat A3A dan N3E tersebut

mempunyai nilai similaritas 99,99% dengan *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632T (Gambar 14). Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat A3A merupakan Spesies *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Lopez *et al.* (2016)[82] gen *adh 4* dijumpai pada *S. cerevisiae*, sedangkan menurut Smidt *et al.* (2012) [83] *adh1* adalah satu-satunya alkohol dehidrogenase yang mampu mengkatalisis perubahan asetaldehid menjadi etanol secara efisien. Ketika *S. cerevisiae* ditumbuhkan pada sumber karbon yang dapat difermentasi, seperti glukosa, *adh 1* bertanggung jawab untuk regenerasi NAD⁺ dari NADH dengan mengkatalisis perubahan asetaldehid untuk menghasilkan *etanol* [7].

Gen *adh* pada isolat S1A mempunyai nilai similaritas 97,57% dengan gen *adh Candida tropicalis* H5343 clone B4 (Gambar 20). Identifikasi molekular berdasar sekuen 18S rDNA, isolat S1A tersebut mempunyai nilai similaritas 99,99% dengan *Candida tropicalis* ATCC 20615 (Gambar 15). Menurut Wang *et al.* (2016)[85] *adh 1* dijumpai pada *Candida tropicalis*, sehingga isolat S1A yang teridentifikasi sebagai *C. tropicalis* ini memang memiliki gen *adh*.



Gambar 20. Pohon filogeni isolat A3A, K1A, N3E, S1A dan isolat acuan berdasarkan similaritas sekuen gen *adh* menggunakan algoritma *Likelihood* dengan *bootstrap* 1000

Aktivitas Enzim pdc dan adh

Aktivitas enzim pdc dalam bentuk *crude* enzim dan pemurnian parsial

Enzim pdc dan adh berperan pada pengubahan glukosa menjadi etanol. Enzim pdc mempunyai aktivitas dalam pengubahan glukosa menjadi asetaldehid sedangkan enzim adh mempunyai aktivitas mengubah asetaldehid menjadi etanol. Aktivitas enzim pdc bentuk *crude* enzim dan pemurnian parsial pada semua isolat menunjukkan kenaikan dan penurunan meskipun tidak berbeda nyata. Hal tersebut berkaitan dengan sifat enzim yang terdapat dalam isolat yang berbeda. *Crude* enzim pdc pada isolat A3A, K1A, S1A, dan *S. cerevisiae* (kontrol) secara berurutan memiliki aktivitas sebesar 61,35 U/mg, 24,92 U/mg, 20,35 U/mg, dan 78,44 U/mg; setelah pemurnian parsial aktivitasnya secara berurutan menjadi 60,74 U/mg, 25,47 U/mg, 10,37 U/mg, dan 74,72 U/mg (Tabel 3). Penurunan aktivitas enzim setelah pemurnian parsial pada isolat A3A dan S1A terjadi karena adanya sebagian protein yang hilang. Pada saat pemurnian protein, kotoran seperti keratin [86], protein, dan garam akan dihilangkan, sehingga terjadi penurunan konsentrasi protein total serta pengurangan aktivitas enzim [87]. Kenaikan aktivitas enzim setelah pemurnian parsial pada isolat K1A dan *S. cerevisiae* (kontrol) terjadi karena terpisahnya protein selain enzim pdc pada saat pemurnian, sehingga jumlah protein lebih sedikit sebagai pembagi dalam penghitungan aktivitas spesifik enzim pdc tersebut [50].

Tabel 3. Aktivitas enzim piruvat dekarboksilase *crude* dan hasil pemurnian parsial pada isolat A3A, K1A, dan S1A dibandingkan dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Nama Isolat	Konsentrasi Protein (mg/mL)		Aktivitas enzim (U/mg)	
	<i>Crude</i>	Permurnian 80%	<i>Crude</i>	Permurnian 80%
A3A	32,32	54,40	61,35±0,04 ^c	60,74±0,05 ^c
K1A	15,72	12,36	24,92 ± 0,02 ^b	25,47 ± 0,02 ^b
S1A	9,78	13,35	10,35 ± 0,01 ^a	10,30 ± 0,02 ^a
<i>S. cerevisiae</i> (Kontrol)	39,33	38,12	74,72 ± 0,04 ^d	78,44 ± 0,03 ^d

Huruf yang sama dalam setiap kolom aktivitas enzim menunjukkan tidak berbeda secara nyata antarisolat (p > 0,05) menurut uji Duncan

Konsentrasi protein enzim pdc hasil pemurnian parsial isolat A3A dan S1A secara berurutan 54,40 mg/mL dan 13,35 mg/mL lebih tinggi daripada *crude* enzim yang secara berurutan sebesar 32,32 mg/mL dan 9,78 mg/mL (Tabel 3). Hal tersebut karena pada saat pemurnian terjadi pemisahan protein selain enzim pdc, sehingga jumlah protein menjadi lebih sedikit sebagai pembagi dalam penghitungan aktivitas spesifik enzim pdc tersebut dan konsentrasi protein spesifik meningkat. Pada isolat K1A konsentrasi protein *crude* enzim 15,72 mg/mL lebih tinggi daripada pemurnian parsial sebesar 12,36 mg/mL. Hal tersebut karena saat pemurnian kotoran seperti keratin, molekul kecil, protein, dan garam akan dihilangkan, sehingga terjadi penurunan konsentrasi protein total. Menurut Wang *et al.* (2009) [89] pemurnian protein merupakan serangkaian proses yang dimaksudkan untuk mengisolasi satu atau beberapa protein dari organ atau jaringan yang berbeda dengan hasil konsentrasi protein dapat lebih tinggi atau lebih rendah. Kontrol (*S. cerevisiae*) terlihat bahwa konsentrasi protein saat pemurnian parsial sedikit menurun, tetapi aktivitasnya sangat meningkat, hal tersebut

mungkin karena dalam *S. cerevisiae* terkandung berbagai macam enzim *pdc*, seperti *pdc1*, *pdc 5*, dan *pdc 6* yang masing-masing dapat mengkodekan *piruvat dekarboksilase* aktif [90].

Tabel 4. Aktivitas enzim alkohol dehidrogenase *crude* dan hasil pemurnian parsial pada isolat A3A, K1A, dan S1A dibandingkan dengan Kontrol (*S. cerevisiae*)

Nama Isolat	Konsentrasi Protein (mg/mL)		Aktivitas enzim (U/L)	
	<i>Crude</i>	Permurnian 80%	<i>Crude</i>	Permurnian 80%
A3A	34,11	24,30	28,73 ± 0,15 ^d	24,40 ± 0,06 ^d
K1A	13,97	12,26	1,75 ± 0,05 ^a	10,35 ± 0,10 ^b
S1A	13,20	13,25	10,63 ± 0,06 ^b	8,36 ± 0,03 ^a
<i>S. cerevisiae</i> (Kontrol)	34,89	38,02	21,46 ± 0,04 ^c	24,13 ± 0,05 ^c

Huruf yang sama pada kolom aktivitas enzim menunjukkan aktivitasnya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) menurut uji Duncan

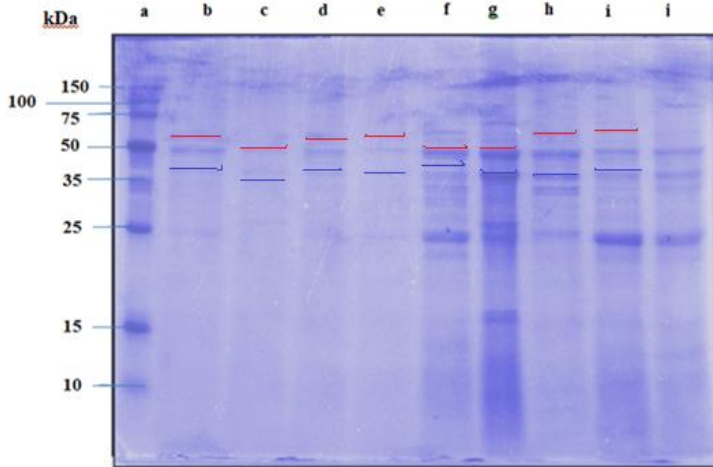
Konsentrasi protein adh hasil pemurnian parsial lebih rendah daripada *crude* enzim, kecuali pada *S. cerevisiae* kontrol. Konsentrasi protein *crude* enzim isolat A3A dan K1A secara berurutan 34,11 mg/mL dan 13,97 mg/mL, setelah pemurnian parsial turun menjadi 24,30 mg/mL dan 12,26 mg/mL (Tabel 4). Hal tersebut dapat terjadi karena saat pemurnian, kotoran seperti molekul kecil, protein, dan garam akan dihilangkan, sehingga terjadi penurunan konsentrasi protein total. Pada isolat S1A dan *S. cerevisiae* konsentrasi protein *crude* enzim awalnya secara berurutan 13,20 mg/mL dan 34,89 mg/mL setelah pemurnian parsial meningkat menjadi 13,25 mg/mL dan 38,02 mg/mL (Tabel 4).

Hadirin yang kami hormati

Berikut adalah Berat Molekul Enzim pdc dan adh pada Isolat Khamir Terpilih

Berat molekul enzim pdc dan adh ditentukan menggunakan SDS PAGE. Menurut Berlowska *et al.* (2009) [50] enzim pdc *Saccharomyces cerevisiae* memiliki berat molekul 60 kDa. Berat molekul *crude* enzim pdc isolat A3A, K1A, S1A, dan *S. cerevisiae* (kontrol) secara berurutan 66,31 kDa; 59,32 kDa; 64,90 kDa), dan 60 kDa. Berat molekul enzim pdc hasil pemurnian parsial isolat A3A, K1A, S1A, dan kontrol (*S. cerevisiae*) secara berurutan 58,3 kDa; 57,3 kDa; 64,90 kDa; dan 64,20 kDa (Gambar 21). Berat molekul enzim pdc baik *crude* maupun hasil pemurnian isolat A3A, K1A, S1A berbeda dengan berat molekul pdc *S. cerevisiae* hal tersebut disebabkan pdc merupakan enzim kompleks, pada organisme yang berbeda mempunyai struktur dan berat molekul yang berbeda pula, pada *E.coli* berkisar (65-66) kDa dan pada *B. Stearothermophilus* (49-76) kDa [91].

Menurut Edenberg (2007)[51] berat molekul enzim adh *Saccharomyces cerevisiae* 36,85 kDa. Berat molekul *crude* enzim adh isolat A3A, K1A, S1A, dan *S. cerevisiae* (kontrol) secara berurutan adalah 39,31 kDa; 33,19 kDa; 37,79 kDa, dan 39,80 kDa; sedangkan berat molekul enzim adh hasil pemurnian parsial keempat isolat khamir tersebut secara berurutan adalah 39,30 kDa; 38,10 kDa, 37,80 kDa, dan 39,80 kDa. Berat molekul enzim adh baik *crude* maupun hasil pemurnian isolat A3A, K1A, S1A berbeda dengan berat molekul adh *S. cerevisiae* hal tersebut disebabkan adh pada setiap makhluk hidup mempunyai berat molekul yang berbeda-beda, pada hati kuda berat molekul adh 41 kDa [92].



Gambar 21. Profil protein enzim pdc dan adh tiga isolat khamir terpilih dan *S. cerevisiae* berdasarkan analisis SDS-PAGE

Lane (a) Marker, (b) isolat A3A (crude ekstrak), (c) isolat K1A (crude ekstrak), (d) isolat S1A (crude ekstrak), (e) Kontrol (crude ekstrak), (f) isolat A3A (pemurnian 80 %), (g) isolat K1A (pemurnian 80%), (h) isolat S1A (pemurnian 80%), (i) Kontrol (pemurnian 80%), (j) Marker ——— enzim adh ——— enzim pdc

PENUTUP

Hadirin yang berbahagia

Bioetanol sebagai alternatif solusi menipisnya sumber energi di dunia ini telah banyak digunakan oleh negara-negara di Asia dan Eropa, karena merupakan salah satu sumber energi terbarukan utama di masa depan. Bioetanol ini sudah banyak diproduksi dari berbagai limbah yang mengandung selulosa dan gula, dengan harapan dapat mengurangi limbah pertanian maupun rumah tangga. Khamir *indigenous* (asli) dari tanaman juga sudah banyak diisolasi dan digunakan untuk membantu memfermentasi limbah menjadi bahan yang bisa dimanfaatkan antara lain menjadi bioetanol ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Hadirin yang berbahagia,

Sebagai penutup pidato ilmiah ini, ijinkan saya menghaturkan ucapan terima kasih dengan tulus kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam pencapaian guru besar ini.

Pertama, saya mengucapkan terima kasih kepada Menteri Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia, Nadiem Anwar Makarim, B. A., M. B. A. yang melalui SK No. 63636/M/07/2023 telah menaikkan jabatan akademik/fungsional saya menjadi Profesor dalam bidang Mikrobiologi

Kedua, saya mengucapkan terima kasih kepada Plt. Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi, Prof. Ir. Nizam, M.Sc., DIC., Ph. D yang telah menetapkan Penetapan Angka Kredit GB saya melalui SK No. 2734/E4/KP/GB/2023.

Ketiga, ucapan terima kasih ditujukan kepada Tim Penilai Pusat Jabatan Fungsional Dosen, Kepala Biro SDM Setjen Kemendikbudristek.

Keempat, saya menghaturkan terima kasih kepada Kepala Lembaga Layanan Pendidikan Tinggi Wilayah V Yogyakarta, Prof. drh. Aris Junaidi, Ph.D., Taufiqurahman, S.E. (Kepala Bagian Umum), Fatimah, S. IP., M.M., (Kepala Subbagian Kepegawaian), dan Rahman Hakim, S.E. yang telah mengusulkan kenaikan jabatan fungsional saya sebagai guru besar pada tanggal 15 Agustus 2023.

Kelima, terima kasih kepada Prof. Dr. Marsudi Triatmodjo, S.H., L.L.M., Ketua BPH UAD; Rektor Universitas Ahmad Dahlan, Prof. Dr. Muchlas, M.T.; Ketua senat UAD, Prof. Dr. Dwi Sulisworo.; MT. Drs. Parjiman, M.Ag. Wakil Rektor Bidang Al Islam dan Kemuhammadiyah; Rusydi Umar, S.T., M.T., Ph.D. Wakil Rektor Bidang Akademik; Dr. Norma Sari, S.H., M. Hum. Wakil Rektor Bidang Sumber Daya Manusia; Utik Bidayati, S.E.,

M.M., Wakil Rektor Bidang Keuangan, Kehartabendaan, dan Administrasi Umum; Dr. Gatot Sugiharto, S.H., M.H. Wakil Rektor Bidang Kemahasiswaan dan Alumni; Kepala Biro Sumber Daya Manusia, Dr. Hendro Widodo, M.Pd.; Kepala Bidang Seleksi dan Pengembangan Karir (BSDM), Dr. Farid Setiawan, S.Pd., M.Pd.I., Tim SDM (mbak Dinda dan mas Jam'an) yang telah memfasilitasi dan memberi bantuan kepada saya sehingga SK Guru Besar saya terbit pada tanggal 3 November 2023.

Keenam, ucapan terima kasih kepada Dekan FKIP Muhammad Sayuti, S.Pd., M.Pd., M.Ed., Ph.D. Wakil Dekan I Dr. Suyatno, M.Pd.I. dan Wakil dekan II Dr. Ani Susanti, M.Pd.B.I., Ketua dan sekretaris Senat FKIP dan anggota Senat FKIP. Ketua Program Studi, Sekretaris Program Studi, dan Dosen Pendidikan Biologi, Kepala Kantor Fakultas dan tenaga kependidikan di lingkungan FKIP, Direktur LSP dan Teman-teman di LSP yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses pengusulan Guru Besar ini.

Ketujuh, ucapan terima kasih kepada teman-teman dosen Program Studi Pendidikan Biologi dan Biologi, staf tendik dan Laboran Pendidikan Biologi dan Biologi atas kebersamaan dan saling support dalam suasana kekeluargaan memberikan ruang bagi saya melaksanakan catur dharma.

Kedelapan, ucapan terima kasih kepada dosen-dosen saya ketika kuliah S1, S2 di Biologi UGM dan S3 di Biologi Universitas Brawijaya, terutama promotor disertasi, Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., ko-promotor saya Dr. Suharjono, M.S., dan Tri Ardyati, M.Agr, Ph.D

Kesembilan, ucapan terima kasih kepada Tim Kreatif UAD, Tim Video Profil dari TVMU di bawah koordinasi Pak Asrul Saptono, M.M., atas dukungan teknis menyiapkan video profil.

Kesepuluh, ucapan terima kasih kepada ayahanda H. Subandi (alm), ibunda Hj. Chuzainun yang telah membesarkan dan mendidik saya sampai dengan saat ini, memberikan motivasi bahwa pendidikan adalah sangat penting dan mendoakan keberhasilan dan kesuksesan saya. Semoga Allah SWT. memberikan pahala yang berlipat ganda, Aamiin YRA.

Kesebelas ucapan terima kasih kepada bapak mertua H. Hadi Subiyanto (alm) dan ibu Hj. Siti Suciyah (alm) yang selalu mendoakan keberhasilan saya, Semoga Alloh SWT. mengampuni semua khilaf dan salah almarhum dan almarhumah serta menempatkan beliau di tempat tertinggi di sisi Alloh SWT., Aamiin YRA.

Keduabelas ucapan terima kasih kepada suami saya tercinta H. Arzan Winarno dan anak-anak kami Arif Rozaq Kurniawan, Latifah Rizqi Mubarak, Indra Dwi Rizqianto, Rizqiana Tri Aryaningrum, Faris Nur Rizqiawan, dan Ahmad Ryan Rizqiawan yang selalu mensupport dan mendoakan keberhasilan saya, semoga Alloh SWT selalu memberikan kesehatan dan kemudahan dalam segala hal, Aamiin YRA.

Ketigabelas ucapan terima kasih kepada keluarga besar saya kakak, adik, Trah Hadi Subiyanto, Trah Bani Alwi, dan Trah Moedjadi Idris, terutama Prof. Dr. Drs. H. Subardjo, S.H., M.Hum. yang selalu memberikan motivasi untuk selalu mengurus jabatan akademik, hingga akhirnya saya dapat meraih Guru besar ini, semoga Alloh SWT. selalu memberikan kesehatan dan usia yang barokah, aamiin YRA.

Keempatbelas ucapan terimakasih kepada teman-teman alumni Fabiogama 88 (Prof. Dr. Margareta Rahayuningsih, M.Si, Prof. Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si, Dr.biol.hom. Nastiti Wijayanti, S.Si., M.Si. Dr. Sri Nabawiyati Nurul Makiyah, S.Si., M. Kes. Ida Safitri, S.Si, Juziyat Rosanati, M.Si, Atik Rosemiyati, S.Si dan teman-teman semua) yang telah saling support dan kompak, semoga Alloh SWT memudahkan semua urusan kita, aamiin YRA.

Kelimabelas ucapan terimakasih kepada Pengurus ALFA DIY-Jateng (Prof. Dr. Sudarmin, M.Si, Prof. Dr. Sukarno, M.Si., R Muhammad Ali, S.S., M.Pd., Dr. Sri Tutur Martaningsih, M.Pd., Dra. Umi Rohyati, M.Hum., Uswatun Khasanah S.Si., M.Sc., Dr. Raden Muhammad Amin Sunarhadi, S.Si., M.P., Dr. Wahyu Hari Kristiyanto, S.Pd., M.Pd. Dr. Budi Legowo, S.Si., M.Si., dan teman-teman semua) yang saling support dalam memajukan ALFA, semoga Alloh SWT memudahkan semua urusan kita aamiin YRA.

Dan kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan

satu persatu, yang telah ikut memberikan motivasi dan mendoakan saya untuk proses pengusulan GB saya. Terakhir, saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada bapak ibu, saudara, saudari yang telah berkenan menyimak dan mendengarkan pidato ilmiah saya ini. Saya mohon maaf apabila ada yang kurang berkenan. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat kepada kita semua. Aamiin YRA.

Wassalamualaikumwarrahmatullahiwarakatuh

REFERENSI

- [1] D. and D. Kiran, B. R., Kumar, "Perspectives Of Microalgal Biofuels As a Renewable Source Of Energy," *Energy Conversion. Manag.*, vol. 88, no. 2, pp. 1228–1244, 2014.
- [2] M. N. Ali, M. K. Mohd, and M. Mohiuddin, "Ethanol fuel production through microbial extracellular enzymatic hydrolysis and fermentation from renewable agrobased cellulosic wastes," *Int. J. Pharma Bio Sci.*, vol. 2, no. 2, pp. 321–331, 2011.
- [3] S. K. Balan, Venkatesh; USA David Chiaramonti, "Review of US and EU initiatives toward development, demonstration, and commercialization of lignocellulosic biofuels," *Biofuels, Bioprod. Biorefining*, vol. 8, no. 7, pp. 732–759, 2013.
- [4] B. Bharathiraja, J. Jayamuthunagai, R. Praveenkumar, J. Vinotharulraj, and P. Vinoshmuthukumar, "Bioethanol Production from Lignocellulosic Materials - An Overview," vol. 01, no. 07, 2014.
- [5] N. Srivastava, R. Rawat, H. Singh Oberoi, and P. W. Ramteke, "A review on fuel ethanol production from lignocellulosic biomass," *Int. J. Green Energy*, vol. 12, no. 9, 2015.
- [6] M. Hanif, T. M. I. Mahlia, H. B. Aditiya, and M. S. Abu Bakar, "Energy and environmental assessments of bioethanol production from Sri Kanji 1 cassava in Malaysia," *Biofuel Res. J.*, vol. 4, no. 1, pp. 537–544, 2017.
- [7] M. S. Eram and K. Ma, "Decarboxylation of pyruvate to acetaldehyde for ethanol production by hyperthermophiles," *Biomolecules*, vol. 3, no. 3, pp. 578–596, 2013.
- [8] S. Kutter, M. S. Weiss, G. Wille, R. Golbik, M. Spinka, and S. König, "Covalently bound substrate at the regulatory site of yeast pyruvate decarboxylases triggers allosteric enzyme activation," *J. Biol. Chem.*, vol. 284, no. 18, pp. 12136–12144, 2009.
- [9] A. Elahi and A. Rehman, "Bioconversion of hemicellulosic

- materials into ethanol by yeast, *Pichia kudriavzevii* 2-KLP1, isolated from industrial waste,” *Rev. Argent. Microbiol.*, vol. 50, no. 4, pp. 417–425, 2018.
- [10] A. J. A. Van Maris *et al.*, “Directed Evolution of Pyruvate Decarboxylase-Negative *Saccharomyces* Pyruvate-Hyperproducing Yeast Directed Evolution of Pyruvate Decarboxylase-Negative *Saccharomyces cerevisiae*, Yielding a C₂-Independent, Glucose-Tolerant, and Pyruvate-Hyperproducing,” *Society*, vol. 70, no. 1, pp. 159–166, 2004.
- [11] O. De Smidt, J. C. Du Preez, and J. Albertyn, “The alcohol dehydrogenases of *Saccharomyces cerevisiae*: A comprehensive review,” *FEMS Yeast Res.*, vol. 8, no. 7, pp. 967–978, 2008.
- [12] R. P. John, G. S. Anisha, K. M. Nampoothiri, and A. Pandey, “Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 1, pp. 186–193, 2011.
- [13] W. and Pertiwi, “Ethanol Production from Sugarcane Drops by *Saccharomyces cerevisiae* Forming Flok (Nrrel – Y 265,” 2013.
- [14] M. A. Shamim, M. R. H., & Raihan, “Effectiveness of using ICTs to promote teaching and learning in technical education: Case of Bangladesh,” *Int. J. Vocat. Tech. Educ.*, vol. 8, no. 2, pp. 12–19, 2016.
- [15] I. Saputra, Ridlo, A., Widowati, “Study of Seaweed *Sargassum duplicatum* J. G. Agardh as Producer of Bioethanol by Acid Hydrolysis and Fermentation Process,” *Journal Mar. Res.*, vol. 1, no. 2, pp. 145–151, 2012.
- [16] M. G. Borines, R. L. de Leon, and J. L. Cuello, “Bioethanol production from the macroalgae *Sargassum* spp.,” *Bioresource Technology*, vol. 138, pp. 22–29, 2013.
- [17] T. Widyaningrum, I. Prastowo, M. Parahadi, and A. D. Prasetyo, “Production of bioethanol from the hydrolysate of brown seaweed (*Sargassum crassifolium*) using a naturally β -glucosidase producing yeast *Saccharomyces cereviceae* JCM 3012,” *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, vol. 13, no. 3, 2016.

- [18] I. M. A. S. Wijaya, I. gusti K. A. Arthawan, and A. N. Sari, "Potensi Nira Kelapa Sebagai Bahan Baku Bioetanol," *J. Bumi Lestari*, vol. 12, no. 1, pp. 85–92, 2012.
- [19] S. Hadi, Thamrin, S. Moersidik, and S. Bahry, "(Karakteristik Dan Potensi Bioetanol Dari Nira Nipah (*Nypa fruticans*) Untuk Penerapan Skala Teknologi Tepat Guna," *J. Ilmu Lingkung.*, vol. 7, no. 2, pp. 223–240, 2013.
- [20] Chairul dan Silvia Reni Yenti, "Pembuatan Bioetanol dari Nira Nipah Menggunakan *Sacharomyces cereviceae*," *J. Ilm. Sains Terap.*, vol. 4, no. 2, pp. 105–108, 2013.
- [21] P. Naknean, M. Meenune, and G. Roudaut, "Characterization of palm sap harvested in Songkhla province, southern Thailand," *Int. Food Res. J.*, vol. 17, no. 4, pp. 977–986, 2010.
- [22] Alamendah, "Jenis-jenis Palem (Arecaceae) Di Indonesia," <https://alamendah.org/2009/12/12/jenis-jenis-palem-arecaceae-di-indonesia/>. pp. 1–12, 2009.
- [23] T. Kurniawan, J. Jayanudin, I. Kustiningsih, and M. Adha Firdaus, "Palm Sap Sources, Characteristics, and Utilization in Indonesia," *J. Food Nutr. Res.*, vol. 6, no. 9, pp. 590–596, 2018.
- [24] Gafar dan Heryani, "Pengembangan Proses Pengolahan Minuman Nira Aren dengan Teknik Ultrafiltrasi dan Deodorisasi," *J. Has. Penelit. Ind.*, vol. 25, no. 1, pp. 89–90, 2012.
- [25] J. Jasman, I. D. Prijambada, C. Hidayat, and D. Widiyanto, "Selection of Yeast Strains for Ethanol Fermentation of Glucose-FructoseSucrose Mixture," *Indones. J. Biotechnol.*, vol. 17, no. 2, pp. 114–120, 2012.
- [26] S. Dashko, N. Zhou, C. Compagno, and J. Piškur, "Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation?," *FEMS Yeast Res.*, vol. 14, no. 6, pp. 826–832, 2014.
- [27] G. Walker and G. Stewart, "*Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages," *Beverages*, vol. 2, no. 4, p. 30, 2016.
- [28] Y. Lin *et al.*, "The alcohol dehydrogenase system in the xylose-fermenting yeast *Candida maltosa*," *PLoS One*, vol. 5,

no. 7, pp. 1–9, 2010.

- [29] A. Tronchoni, J., Gamero, A., Arroyo-Lopez, F.N., Barrio, E., and Querol, “Differences in the glucose and fructose consumption profiles in diverse *Saccharomyces* wine species and their hybrids during grapes juice fermentation,” *Indian J. Food Microbiol.*, vol. 134, pp. 237-243., 2009.
- [30] T. Sopandi and A. Wardah, “Ethanol production and sugar consumption of co-culture *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3012 with *Candida tropicalis* FNCC 3033 in media containing inhibitor fermentation,” *J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.*, vol. 7, no. 2, pp. 160–167, 2017.
- [31] S. S. D. Oberoi, H. Ujjal Kaur, Vinod Bhargav, “Ethanol production from alkali- and ozone-treated cotton stalks using thermotolerant *Pichia kudriavzevii* HOP-1,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 37, no. 1, pp. 219–226, 2012.
- [32] H. S. O. and B. S. C. Baljit, K., “Enhanced cellulase producing mutants developed from heterokaryotic *Asperillus* strain,” *Bioresour. Technol.*, vol. 156, p. 100–107, 2014.
- [33] H. Phuong D, Thanonkeo P, Phong, “Screening Useful Isolated Yeasts for Ethanol Fermentation at High Temperature,” *Int. J. Appl. Sci. Technol.*, vol. 2, no. 1, pp. 65–71, 2012.
- [34] H. G. and Yücel and Zümriye Aksu, “Ethanol fermentation characteristics of *Pichia stipitis* yeast from sugar beet pulp hydrolysate: Use of new detoxification methods,” *Fuel*, vol. 158, pp. 793–799, 2015.
- [35] J. P. A. Silva, S. I. Mussatto, I. C. Roberto, and J. A. Teixeira, “Ethanol production from xylose by *Pichia stipitis* NRRL Y-7124 in a stirred tank bioreactor,” *Brazilian J. Chem. Eng.*, vol. 28, no. 1, pp. 151–156, 2011.
- [36] S. F. and M. T. Aniová, K., M, Simona Kunová , Jozef Sabo , Eva Ivanišová , Jana Žiarovská, “Identification of Yeasts with Mass Spectrometry during Wine Production,” *Fermentation*, vol. 6, no. 5, 2020.
- [37] L. . Lim, S., Teong, “Recent trends, oppoturnities and challenges of biodiesel in malaysia: an overview. Renew,”

- Renew. Sustain. Energy Rev. J.*, vol. 14, no. 3, pp. 938–954, 2010.
- [38] A. M. A.-U. M. Akhtara, N., Arun Karnwala, Atul Kumar Upadhyaya, Sanjoy Paulb, “*Saccharomyces cerevisiae* Bio-Ethanol Production, A Sustainable Energy Alternative,” *Asian J. Microbiol. Biotechnol. Environ. Sci.*, vol. 20, no. 2, pp. 202–206, 2018.
- [39] F. H. Lam, A. Ghaderi, G. R. Fink, and G. Stephanopoulos, “Engineering alcohol tolerance in yeast,” *Science (80-.)*, vol. 346, no. 6205, pp. 71–75, 2014.
- [40] V. W. R. Murray, David A. Bender, Kathleen M. Botham, Peter J. Kennelly, *Biokimia Harper*, 29th ed. jakarta, 2014.
- [41] M. M. Felczak, T. B. Jacobson, W. K. Ong, D. Amador-Noguez, and M. A. Teravest, “Expression of phosphofructokinase is not sufficient to enable embden-meyerhof-parnas glycolysis in *zymomonas mobilis* ZM4,” *Front. Microbiol.*, vol. 10, no. SEP, pp. 1–11, 2019.
- [42] & O. L. Zaldivar, J., Nielsen J, “Fuel ethanol production from lignocellulose: A challenge for metabolic engineering and process integration.,” *Appl. Microbiol. Biotechnol* 17 34 2001
- [43] Y. Yamada, H.; Tanaka, R.; Sulaiman, O.; Hashim, R.; Hamid, Z. A. A.; Yahya, M. K. A.; Kosugi, A.; Arai, T.; Murata, Y.; Nirasawa, S.; Yamamoto, K.; Ohara, S.; Mohd Yusof, M. N.; Ibrahim, W. A.; Mori, “Old oil palm trunk: A promising source of sugars for bioethanol production,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 34, no. 11, pp. 1608–1613, 2010.
- [44] Kusumanto, “Mencari Cara Pengawetan Alami Nira Aren Untuk Produksi Gula Organik.” 2010.
- [45] B. Misra, “Neera: The Coconut Sap: A Review,” *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 1, no. 4, pp. 35–38, 2016.
- [46] S. Tamunaidu, P.; Matsui, N.; Okimori, Y.; Saka, “Nipa (*Nypa fruticans*) sap as a potential feedstock for ethanol production,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 52, no. 1, pp. 96–102, 2013.
- [47] M. A. F. Kurniawan, T. Kurniawan, Jayanudin, I.

- Kustiningsih, "Palm Sap Sources, Characteristics, and Utilization in Indonesia," *J. Food Nutr. Res.*, vol. 6, no. 9, pp. 590–596, 2018.
- [48] M. Ghorbani and H. Karimi, "Bioinformatics Approaches for Gene Finding," *Int. J. Sci. Res. Sustain.*, vol. 1, no. 4, pp. 12–15, 2015.
- [49] L. J. Zyl, Van, W. D. Schubert, M. I. Tuffin, and D. A. Cowan, "Structure and functional characterization of pyruvate decarboxylase from *Gluconacetobacter diazotrophicus*," *BMC Struct. Biol.*, vol. 14, no. 1, pp. 1–13, 2014.
- [50] J. Berlowska, D. Kręgiel, and W. Ambroziak, "Pyruvate decarboxylase activity assay in situ of different industrial yeast strains," *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 47, no. 1, pp. 96–100, 2009.
- [51] H. J. Edenberg, "The Genetics of Alcohol Metabolism Role of Alcohol Dehydrogenase and Aldehyde Dehydrogenase Variants," *Alcohol Res. Heal.*, vol. 30, no. 1, 2007.
- [52] N. Dhap and H. Singh, "Pretreatment of Rice Straw for Bio-Ethanol Production : A Review," *J. Chem. Pharm. Res.*, vol. 9, no. 4, pp. 216–220, 2017.
- [53] N. Samsuri, M. Gozanı, M .R., Mardias, M. Baiquni, H. Hermansyahı, A. Wijanarko, B. Prasetya, "“Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan Steaming pada Produksi Ethanol dari Bagas melalui proses Sakarifikasi dan Fermentasi secara Serentak (SSF).”," *Makara, Teknol.*, vol. 11, no. 1, pp. 17–24, 2007.
- [54] Ş. B. Demir, Yeliz, Bülent ŞENGÜL, Bülent ERGUN, "Alcohol Dehydrogenase from Sheep Liver: Purification, Characterization and Impacts of Some Antibiotics," *J. Inst. Sci. Technol. > index.php > JIST*, vol. 7, no. 3, pp. 151–160, 2017.
- [55] K. Hadziavdic, K. Lekang, A. Lanzen, I. Jonassen, E. M. Thompson, and C. Troedsson, "Characterization of the 18S rRNA gene for designing universal eukaryote specific primers," *PLoS One*, vol. 9, no. 2, 2014.
- [56] D. Stanley, A. Bandara, S. Fraser, P. J. Chambers, and G. A.

- Stanley, "The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 109, no. 1, pp. 13–24, 2010.
- [57] Z. H. Zheng SY, Xu D, Wang HR, Li J, "Kinetics of irreversible inhibition of yeast alcohol dehydrogenase during modification by 4,4'-dithiodipyridine," *J. Biol. Macromol.*, vol. 20, no. 4, pp. 307–313, 1997.
- [58] M. S. Manir MM, Kim, JK, Lee BG, "Tea catechins and flavonoids from the leaves of *Camellia sinensis* inhibit yeast alcohol dehydrogenase," *Bioorganic and Med. Chemistry*, vol. 20, no. 7, pp. 2376–2381, 2012.
- [59] Y. S. Lee YP, Liao JT, Cheng YW, Wu TL, Lee SL, Liu JK, "Inhibition of human alcohol and aldehyde dehydrogenases by acetaminophen: Assessment of the effects on first-pass metabolism of ethanol," *Alcohol*, vol. 47, no. 7, pp. 559–565, 2013.
- [60] Tonya N. Zeczycki, Martin St. Maurice, and Paul V. Attwood, "Inhibitors of Pyruvate Carboxylase," *Open Enzym Inhib. Journal*, vol. 3, pp. 8–26, 2011.
- [61] & L. S. Berg, J.M., J.L. Tymoczko, *Biochemistry.*, 5th editio. New York, 2002.
- [62] H. K. Mæhre, L. Dalheim, G. K. Edvinsen, E. O. Elvevoll, and I. J. Jensen, "Protein determination—method matters," *Foods*, vol. 7, no. 1, 2018.
- [63] P. Wingfield, "Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate," *Curr. Protoc. Protein Sci.*, vol. 1, no. 4, p. A.3F.1-A.3F.8, 2016.
- [64] S. N. & T. A. Timasheff, *Stabilization Of Protein Structure By Solvents*, in *Protein Structure: a Practical Approach*, 2nd ed.(Cr. Oxford, 1997.
- [65] V. . Parsegian, "Hopes for hofmeister," *Nature*, vol. 378, pp. 335–336, 1995.
- [66] Y. Lin, W. Zhang, C. Li, "Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742," *Biomass- Bioenergy*, vol. 47, pp. 395–401, 2012.
- [67] J. Jasman, I. D. Prijambada, C. Hidayat, and D. Widiyanto,

- “Selection of Yeast Strains for Ethanol Fermentation of Glucose-Fructose Sucrose Mixture,” *Indones. J. Biotechnol.*, vol. 17, no. 2, pp. 114–120, 2012.
- [68] V. S. Piriya PS, Vasan PT, Padma VS, Vidhyadevi U, Archana K, “Cellulosic ethanol production by recombinant cellulolytic bacteria harbouring *pdc* and *adhII* Genes of *Zymomonas mobilis.*,” *Biotechnol. Res. Int.*, vol. 8, no. 1, pp. 754–759, 2012.
- [69] A. Tesfaw and F. Assefa, “ Current Trends in Bioethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae*: Substrate, Inhibitor Reduction, Growth Variables, Coculture, and Immobilization ,” *Int. Sch. Res. Not.*, vol. 2014, pp. 1–11, 2014.
- [70] 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.
- [71] 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.
- [72] 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.
- [73] 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.
- [74] W. T. Phisalaphong, M.N. Srirattana, “Mathematical Modeling To Investigate Temperature Effect on Kinetic Parameters of Ethanol Fermentation. No Title,” *J. Biochem. Engineering*, vol. 28, no. 1, pp. 36–43, 2010.
- [75] A. S. Nichanun Udomsaksakul, Kentaro Kodama , Somboon Tanasupawat3, “Indigenous *Saccharomyces cerevisiae* Strains from Coconut Inflorescence Sap: Characterization and Use in Coconut Wine Fermentation,” *Chiang Mai Univ. J. Nat. Sci.*, vol. 17, no. 3, 2018.

- [76] J. P. T. Madigal, J. F. Simbahan, N. B. Lantican, S. Agrupis, and F. B. Elegado, "Yeast and Bacterial Community Profiling of Fermenting Nipa (*Nypa fruticans*) Sap in Two Philippine Locations and Fermentation Characteristics of Selected Yeast," *Philipp. Agric. Sci.*, vol. 102, no. 3, pp. 220–229, 2019.
- [77] E. Nofa Wiratno and N. Soleman Rupilu, "Isolation, Identification and Ethanol Production of Indigenous Yeast of Toddy Palm (*Borassus flabellifer* L.) Juice From Tuban, East Java, Indonesia," *Biotropika - J. Trop. Biol.*, vol. 6, no. 1, pp. 6–9, 2018.
- [78] 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.
- [79] S. J. P. Ouoba, L., Kando I., Parkouda C., Sawadogo-Lingani H., "The Microbiology of Bandji, Palm Wine of *Borassus akeassii* from Burkina Faso: Identification And Genotypic Diversity Of Yeasts, Lactic Acid And Acetic Acid Bacteria.," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 113, no. 6, pp. 1428–1441, 2012.
- [80] Q. Zhang, N. Huo, Y. Wang, Y. Zhang, R. Wang, and H. Hou, "Aroma-enhancing role of *Pichia manshurica* isolated from Daqu in the brewing of Shanxi Aged Vinegar," *Int. J. Food Prop.*, vol. 20, no. 9, pp. 2169–2179, 2017.
- [81] J. T. P. Zeynep Vuralhan, Marcos A. Morais, Siew-Leng Tai, Matthew D. W. Piper, "Identification and Characterization of Phenylpyruvate Decarboxylase Genes in *Saccharomyces cerevisiae*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 69, no. 8, pp. 4534–4541, 2003.
- [82] C. Gaona-López, A. Julián-Sánchez, and H. Riveros-Rosas, "Diversity and evolutionary analysis of iron-containing (Type-III) alcohol dehydrogenases in eukaryotes," *PLoS One*, vol. 11, no. 11, pp. 1–30, 2016.
- [83] O. de Smidt, J. C. du Preez, and J. Albertyn, "Molecular and physiological aspects of alcohol dehydrogenases in the ethanol metabolism of *Saccharomyces cerevisiae*," *FEMS Yeast Res.*, vol. 12, no. 1, pp. 33–47, 2012.

- [84] Y. Wang *et al.*, “A phylogenetic analysis of the genus *Saccharomyces* based on 18D rRNA gene sequences: Description of *Saccharomyces kunashirensis* sp. nov. and *Saccharomyces martiniae* sp. nov.,” *Biochem. J.*, vol. 11, no. 3, pp. 1–11, 2016.
- [85] R. H. Yeh, Y. S. Lin, T. H. Wang, W. C. Kuan, and W. C. Lee, “Bioethanol production from pretreated *Miscanthus floridulus* biomass by simultaneous saccharification and fermentation,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 94, 2016.
- [86] R. Van Lis *et al.*, “Concerted up-regulation of aldehyde/alcohol dehydrogenase (ADHE) and starch in *Chlamydomonas reinhardtii* increases survival under dark anoxia,” *J. Biol. Chem.*, vol. 292, no. 6, pp. 2395–2410, 2017.
- [87] W. A. Rayyan, I. S. Majali, A. Abu-zaiton, and W. A. Dayyih, “Specific Purification Of Alcohol Dehydrogenase From *Saccharomyces cerevisiae*; Qualitative And Quantitative Characterization,” *Int. J. Biol. Pharm. Allied Sci.*, vol. 8, no. 12, 2019.
- [88] M. N. Wang X, Hunter AK, “Host cell proteins in biologics development: Identification, quantitation and risk assessment”,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 103, no. 3, pp. 446–458, 2009.
- [89] X. Wang, M., Shen, R., Novak, D., & Pan, “The impact of mobile learning on students’ learning behaviours and performance: Report from a large blended classroom,” *Br. J. Educ. Technol.*, vol. 40, no. 4, pp. 673–695, 2009.
- [90] N. J. Qinhong Wang, Peng He, Dajun Lu, “Purification, Characterization, Cloning and Expression of Pyruvate Decarboxylase from *Torulopsis glabrata* IFO005,” *Japanese Biochem. Sci.*, vol. 136, no. 4, pp. 447–445, 2004.
- [91] M. S. Patel, N. S. Nemeria, W. Furey, and F. Jordan, “The pyruvate dehydrogenase complexes: Structure-based function and regulation,” *J. Biol. Chem.*, vol. 289, no. 24, pp. 16615–16623, 2014.
- [92] S. B. Raj, S. Ramaswamy, and B. V. Plapp, “Yeast Alcohol Dehydrogenase Structure and Catalysis,” *Biochemistry*, vol. 53, no. 36, pp. 5791–5803, 2014.

**CURICULUM
VITAE**



Nama Lengkap

Prof. Dr. Trianik Widyaningrum, S.Si., M.Si

Jenis Kelamin	Perempuan
Jabatan Fungsional	Profesor (850 AK)
NIPM	197001141997060110754443
NIDN	0514017001
NIRA	9910123521007109706
NA LAMDIK	220381
Tempat dan Tanggal Lahir	Semarang,14 Januari 1970
E-mail	trianik.widyaningrum@pbio.uad.ac.id
Nomor Telepon/HP	0816682123
Alamat Kantor	Jl. Ringroad Selatan, Kragilan, Tamanan, Banguntapan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta 55191
Nomor Telepon/Faks	Telp (0274) 563515 / (0274) 564604
Status Perkawinan	Menikah
Agama	Islam
Golongan / Pangkat	IVb / Pembina Tingkat I
ID SINTA3	ID : 5972791
ID Scopus	ID : 57191584032
Sertifikat Pendidik	091235214570243

Riwayat Pendidikan Tinggi

Tahun Lulus	Program Pendidikan	Perguruan Tinggi	Jurusan / Bidang Studi
1994	Sarjana	Universitas Gadjah Mada	Botani/Biologi
2001	Magister	Universitas Gadjah Mada	Biologi
2021	Doktor	Universitas Brawijaya	Biologi

Organisasi Profesi Ilmiah

Tahun	Jenis / Nama Organisasi	Jabatan Keanggotaan
2020–sekarang	Active Learning Facilitator Association (ALFA)	Bendahara
2022–sekarang	Lembaga Lingkungan Hidup dan Bencana Alam (LLHPB)	Anggota
2022–sekarang	Lembaga Akreditasi Mandiri Kependidikan (Lamdik)	Asesor
2019–sekarang	Lembaga Sertifikasi Profesi UAD	Asesor
2022–sekarang	Jurnal Bioedukatika(Sinta 2)	Editor in Chief

Pengalaman penelitian 5 tahun terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Sumber Dana
1	2023	Perbandingan Kadar bioetanol limbah (kulit kacang tanah dan singkong) dengan perlakuan rasio enzim selulase dari <i>Trichoderma reesei</i> dan <i>Aspergillus niger</i> serta <i>Bacillus subtilis</i> (sbg: ketua peneliti)	UAD
2	2023	Optimasi Aktivitas Antioksidan Kombucha Buah Buni (<i>Antidesma Bunius</i>) (sbg:anggota)	UAD

3	2022	Perbandingan Kadar Bioetanol Kulit Kopi (<i>Coffea arabica</i> Lamk.) dengan Penambahan Enzim Sellulase dari <i>Bacillus subtilis</i> pada Perlakuan dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan <i>Zymomonas mobilis</i> (sbg: ketua peneliti)	UAD
4	2022	Pemanfaatan Pembakaran Sampah Untuk Proses Desalinasi Air Laut (Sbg:Anggota)	UAD
3	2021	Perbandingan Kadar Bioetanol Kulit Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk.) dengan Penambahan Enzim Sellulase dari <i>Trichoderma reesei</i> dan <i>Aspergillus niger</i> pada Perlakuan dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan <i>Zymomonas mobilis</i> (sbg: ketua peneliti)	UAD
5	2020	Perbandingan Kadar Bioetanol Kulit Jagung (<i>Zea mays</i>) dengan Penambahan Enzim Sellulase dari <i>Trichoderma reesei</i> dan <i>Aspergillus niger</i> pada Perlakuan dengan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan <i>Zymomonas mobilis</i> (sbg: ketua peneliti)	UAD
6	2019	Perbandingan Kadar Bioetanol Kulit Buah Naga (<i>Hylocereus Polyrhizus</i>) Dengan Penambahan Enzim Sellulase Dari <i>Trichoderma Reesei</i> Dan <i>Aspergillus Niger</i> Pada Perlakuan Dengan <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Dan Bakteri <i>Zymomonas Mobilis</i> (Sbg: ketua Peneliti)	UAD
7	2019	Identifikasi Gen <i>Pdc</i> Dan <i>Adh</i> Dari <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, Dan Siwalan Untuk Produksi Etanol (tahun ketiga)	DRPM
8	2018	Identifikasi Gen <i>Pdc</i> Dan <i>Adh</i> Dari <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> Indigenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, Dan Siwalan Untuk Produksi Etanol (tahun kedua)	DRPM

Pengalaman Pengabdian lima tahun terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Sumber Dana
1	2022	"Pelatihan Pembelajaran Aktif dan model-model belajar bagi Guru MTs Muhammadiyah Gedongtengen"	UAD
2	2022	Pemberdayaan Ekonomi Masyarakat Desa Panjangrejo Berbasis Teknologi Tepat Guna Untuk Pengelolaan Sampah Rumah Tangga	UAD
3	2022	Pelatihan Pemilahan dan Pengelolaan Sampah di Dusun Gadinglumbang, Greges, dan Mriyan	UAD
4	2021	Pelatihan Penelitian Tindakan Kelas dan Publikasi Ilmiah	UAD
5	2021	Pengembangan Profesionalisme Guru melalui Pelatihan Pembelajaran Aktif & Motivasi Belajar Daring	UAD
6	2019	Pengembangan Profesionalisme Guru Melalui Karya Tulis Ilmiah	UAD

Publikasi di Jurnal Internasional terindeks lima tahun terakhir

Tahun	Judul Artikel	Peran (First author, Corresponding author, atau co Author)	Nama Jurnal, Tahun Terbit, Volume, Nomor P=ISSN/E-ISSN
2022	Comparison of bioethanol production using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Zymomonas mobilis</i> in fermented Jackfruit peel treated with blend crude cellulose enzymes	Trianik Widyaningrum, Listiatie Budi Utami, Indro Prastowo, Vita Meylani, Adi Permadi	<i>International Journal of Design & Nature and Ecodynamics</i> Vol. 17, No. 4, August, 2022, pp. 633-637
2022	Exploration, screening and identification of indigenous yeast from some palm juices for bioethanol production	Trianik Widyaningrum, Novi Febrianti, Indro Prastowo, Much Fuad Saifuddin, Adi Permadi	<i>Biodiversitas</i> Vol 23 No 8 tahun 2022
2021	Identification indigenous Yeast from Palm Juice <i>Cocos nucifera</i> L for Bioethanol Production	Trianik Widyaningrum, Listiatie Budi Utami, Suharjono Suharjono, Tri Ardyati and Aulanni'am	ASM Sc. J., 16, Special Issue 1, 2021

Aulanni'am

- | | | | |
|------|--|---|--|
| 2020 | Diversity And Potency Of Indigenous Yeast From Palm Juice Of <i>Arenga Pinnata</i> Merr., <i>Cocos Nucifera</i> L., <i>Nypa Fruticans</i> Wurmb., And <i>Borassus Flabellifer</i> L. For Bioethanol Production | Trianik Widyaningrum, Suharjono Suharjono Tri Ardyati Aulanni'am Aulanni'am | Biodiversitas Volume 21, Number 1, January 2020 |
| 2020 | Bioethanol Levels of Dragon Fruit (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) Peel with the Addition of Blend Crude Cellulase Enzyme from <i>Trichoderma reesai</i> and <i>Aspergillus niger</i> | Trianik Widyaningrum, Masreza Parahadi | Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology Volume 05, Issue 01, April 2020 |

Publikasi di Jurnal Nasional terakreditasi lima tahun terakhir

Tahun	Judul Artikel	Peran (First author, Corresponding author, atau co Author)	Nama Jurnal, Tahun Terbit, Volume, Nomor P=ISSN/E-ISSN
2023	Penyuluhan sebagai Strategi Peningkatan Pengetahuan Masyarakat tentang Dampak Sampah Plastik dan Pengelolaannya di Desa Panjangrejo Bantul Yogyakarta	Ibdal Satar , Arief Syamsuddin , Totok Eka Suharto , Adi Permadi, Trianik Widyaningrum , Mufti Khakim , Ahmad Raditya Cahya Baswara , Barry Nur Setyanto	Pelita: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat Vol. 3, No. 3, Juli 2023, pp. 61-67 ISSN: 2775-0094 (Online)
2022	Produksi Bioetanol Dari Limbah Batang Kelapa Sawit (<i>Elaeis guineensis</i>) Menggunakan <i>Zymomonas mobilis</i> Dengan Perlakuan Crude Enzim <i>Trichoderma reesei</i> Dan <i>Aspergillus niger</i>	Sindhea Nurmala Santi, Trianik Widyaningrum	Jurnal Biolokus: Jurnal Penelitian Pendidikan Biologi dan Biologi Volume 5, Nomor 1, 2022

2022	Pengaruh Konsentrasi Crude Enzim Bacillus Subtilis Ifo 13719 Terhadap Kadar Gula Dan Etanol Fermentasi Kulit Coffea Arabica Menggunakan Zymomonas Mobilis Ifo 13756	Dheti Suraningsih Trianik Widyaningrum	Bioscientist Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 837-848
2022	Produksi Bioetanol Limbah Nasi Aking Fermentasi Menggunakan Zymomonas Mobilis Dengan Perlakuan Konsentrasi Crude Enzim Bacillus amyloliquefaciens	Sekar Widyastanti Trianik Widyaningrum	Bioscientist Vol. 10, No. 2, December 2022; Page, 901-908
2022	Pengaruh Rasio Crude Enzim Aspergillus niger dan Trichoderma reesei terhadap Kadar Gula dan Bioetanol Hasil Fermentasi Kulit Buah Nangka (Artocarpus heterophyllus Lamk.)	Diana Pertiwi, Trianik Widyaningrum	Metamorfoza:J ournal of Biological Sciences 9(2): 390-396 (September 2022)
2021	Analisis Kualitas Dan Efektivitas Pemanfaatan Buku Ajar Biologi Sma Kelas X Semester 1	Unsi Rianasari Pratiwi, Trianik Widyaningrum	Edu Sains 9(2), (2021)
2021	Production of bioethanol from jackfruit rind-waste using <i>Saccharomyces</i>	Teguh Cipta Trianik Widyaningrum	Journal on Biology and Instruction 1 (2), 61-70

cerevisiae with crude enzyme treatment of *Trichoderma reesei* and *Aspergillus niger*

- | | | | |
|------|--|---|--|
| 2020 | Kadar Bioetanol Kulit Mangga (<i>Mangifera indica</i>) Dengan Perlakuan Enzim Selulase dari <i>Trichoderma reesei</i> dan <i>Aspergillus niger</i> | Trianik Widyaningrum, Masreza Parahadi | Life Science 9 (2) 2020 |
| 2018 | Identifying Conceptual Mistakes on SMA Teaching Books in Materials of Imune System for Eleventh Graders | Aprilia Pangestika, Trianik Widyaningrum | International Journal of Active Learning IJAL 3 (2) (2018) |
| 2018 | Pengaruh Diammonium Hidrogen Fosfat ($(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$) Pada Eksplorasi Khamir Indegenous Nira Aren, Kelapa, Nipah, Dan Siwalan Terhadap Produksi Bioetanol | Trianik Widyaningrum dan Listiatie Budi Utami | Gontor AGROTECH Vol. 4 No. 2, Desember 2018 |

Publikasi di Prosiding seminar lima tahun terakhir

Tahun	Judul Artikel	Peran (First author, Corresponding author, atau co Author)	Nama Jurnal, Tahun Terbit, Volume, Nomor P-ISSN/E-ISSN
2022	Implementasi Al Islam dan Kemuhammadian dalam Pengelolaan sampah plastik	co Author)	Prosiding Seminar Nasional Hasil Pengabdian kepada Masyarakat Vol 4 tahun 2022 e-ISSN: 2686-2964
2022	Pengaruh Pembelajaran Kooperatif Tipe STAD (Student Teams Achievement Division) Terhadap Hasil Belajar Siswa Kelas XI Materi Jaringan Tumbuhan	Corresponding author	Prosiding Seminar Nasional Hasil Pelaksanaan Program Pengenalan Lapangan Persekolahan e-ISSN: 2964-188
2021	Pengaruh rasio <i>crude</i> enzim <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Trichoderma reesei</i> terhadap kadar gula dan bioetanol hasil fermentasi kulit kentang	First author	Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi

2021	Training, Mentoring on Classroom Action Research and Scientific Publications MTs Masyitoh Teachers	First Author	Prosiding Seminar Nasional Hasil Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan Vol 3 (2021)
2021	Pengembangan profesionalisme guru melalui pelatihan pembelajaran aktif & motivasi belajar daring	Secondth author	Prosiding Seminar Nasional Hasil Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan Vol 3 (2021)
2019	Screening And Identification Indigenous Yeast From <i>Neera Sivalan</i> For Bioethanol Production	First author	IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 131 (2019) 012008

Buku Yang Pernah ditulis

No	Judul Buku	Tahun terbit	ISBN	Penerbit
1	Blended Learning Strategy During the COVID-19 Pandemic in Plant Tissue Culture Course (book chapter) Aktivitas	2022	9786236225677	Penerbit: BILDUNG
2.	Pembelajaran Aktif secara Virtual	2021	9786233167048	Penerbit K-Media
3.	A Good Writer is A Good Teacher	2019	9786024514938 :	Penerbit K-Media