PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS Saccharomyces cerevisiae DALAM MENGHIDROLISIS ECENG GONDOK (Eichhornia crassipes)

by Nor Basid Adiwibawa Prasetya

Submission date: 23-May-2023 10:01AM (UTC+0700)
Submission ID: 2099739757
File name: waktu_fermentasi_terhadap_aktivitas_Saccharomyces_cerevisiae.pdf (692.12K)
Word count: 4546
Character count: 27573

JURNAL PENELITIAN Saintek
Volume 26, Nomor 2, 2021 (95-108) p-ISSN:1412-3991 | e-ISSN: 2528-7036

PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS *Saccharomyces cerevisiae* DALAM MENGHIDROLISIS ECENG GONDOK (*Eichhornia crassipes*)

(EFFECT OF FERMENTATION TIME ACTIVITY IN Saccharomyces cerevisiae HYDROLYSIS OF WATER HYACINTH (Eichhornia crassipes))

Purbowatiningrum Ria Sarjono, Nies Suci Mulyani, Ina Noprastika, Ismiyarto, Nyadiwiyana, dan Nor Basid Adiwibowo Prasetya
Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedarto SH No. 1 50271, Kampus Tembalang, Kota Semarang
email: purbowatining@live.undip.ac.id

Abstrak

Saccharomyces cerevisiae merupakan khamir dengan potensi memproduksi selulase yang mampu menghidrolisis enceng gondok menghasilkan glukosa, untuk dapat memproduksi sirup gula, asam organik dan bioetanol. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan data kadar gula pereduksi dari aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* dalam menghidrolisis eceng gondok pada variasi pH dan waktu fermentasi. Proses yang terlebih dahulu dilakukan terhadap eceng gondok adalah penghilangan lignin dengan NaOH. *S. cerevisiae* diadaptasikan dalam media modifikasi eceng gondok sebagai sumber karbon. Kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* dibuat dalam media modifikasi eceng gondok untuk mengetahui waktu optimum pertumbuhan *S. cerevisiae* dalam menghasilkan enzim selulase, sehingga dapat mengetahui fase eksponensial dari *S. cerevisiae*. Berdasarkan penelitian diperoleh hasil bahwa *S. cerevisiae* mampu menghidrolisis eceng gondok menjadi gula pereduksi pH optimum 5 dan waktu fermentasi optimum pada jam ke-48.

Kata kunci: Saccharomyces cerevisiae, hidrolisis selulosa, pH dan waktu fermentasi

Abstract

Saccharomyces cerevisiae is a yeast with the potential to produce cellulase capable of hydrolyzing water hyacinth to produce glucose, to produce sugar syrup, organic acids and bioethanol. This study aims to obtain data on reducing sugar levels from the activity of *S. cerevisiae* in hydrolyzing water hyacinth at variations in pH and fermentation time. The process that was first carried out on water hyacinth was the removal of lignin with NaOH. *S. cerevisiae* was adapted in water hyacinth modified media as a carbon source. The growth curve of *S. cerevisiae* was made in water hyacinth modified media to determine the optimum growth time of *S. cerevisiae* in producing cellulase enzymes, so as to determine the exponential phase of *S. cerevisiae*. Based on the research, it was found that *S. cerevisiae* was able to hydrolyze water hyacinth into reducing sugar with optimum pH 5 and optimum fermentation time at 48 hours.

Keywords: Saccharomyces cerevisiae, cellulose hydrolysis, pH and fermentation time

PENDAHULUAN

S. cerevisiae merupakan jenis khamir yang paling popular penggunaannya, terutama pada fermentasi singkong. Para peneliti telah menemukan bahwa *S. cerevisiae* dapat memproduksi enzim yang berguna untuk manusia. Salah satunya adalah enzim selulase. Enzim selulase adalah

enzim yang dapat memecah ikatan β-1,4-glikosida di dalam selulosa sehingga dapat menghasilkan monomer-monomernya. Sel *S. cerevisiae* dapat tumbuh pada medium yang mengandung air gula dengan konsentrasi tinggi. *S. cerevisiae* merupakan golongan khamir yang mampu memanfaatkan senyawa gula yang dihasilkan oleh mikroorganisme selulotik untuk pertumbuhannya (Afriani, 2012; Tang *et al*., 2013). Sumber selulosa yang mudah ditemukan dan melimpah di alam adalah eceng gondok. Tumbuhan ini memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi (Deshpande *et al*., 2008) sehingga dianggap sebagai gulma yang dapat merusak lingkungan perairan (Artati dkk., 2009). Dampak negatif yang ditimbulkan oleh eceng gondok antara lain menurunkan jumlah cahaya yang masuk ke dalam perairan sehingga menyebabkan turunnya tingkat kelarutan oksigen, menghambat aliran air, merusak sistem irigasi. Eceng gondok dapat bermanfaat dalam bidang bioteknologi sebagai alternatif substrat lignoselulosa (Deshpande *et al*., 2008), sebagai penghasil bioethanol (Puttaswamy *et al.*, 2016; Sharma & Aggarwal, 2020) dan media pertumbuhan mikroorganisme. Eceng gondok mengandung berat kering selulosa 21,50%; hemiselulosa 33,90%; dan lignin 7,01% (Deshpande *et al.*, 2008), dan sebagai sumber selulosa (Sharma, Sarma, & Brar, 2020).

Lignin berada di sekeliling selulosa sehingga selulosa terlindungi dari degradasi. Selulosa tidak dapat dihidrolisis kecuali lignin dilarutkan dan dilepaskan (Kamoldeen *et al*., 2013). Proses penghilangan lignin diperlukan untuk melepaskan lignin dari selulosa dan hemiselulosa. Delignifikasi eceng gondok menggunakan NaOH 2% dan diharapkan lignin, selulosa, dan hemiselulosa dapat terpisah dengan baik sehingga selulosa dapat digunakan untuk proses selanjutnya.

Selulosa adalah karbohidrat paling melimpah dan sering ditemukan di alam (Ramanathan *et al*., 2010). Selulosa sebagai komponen utama dinding sel tumbuhan dan merupakan polisakarida yang dapat dipakai sebagai sumber bioenergi yang hampir tidak pernah habis dan mudah diperbarui (Ja'afaru & Fagade, 2010). Selulosa terdiri atas monomer glukosa yang dihubungkan dengan ikatan β-1,4-glikosida (Kamara dkk., 2006; Ramanathan *et al*., 2010; Ja'afaru & Fagade, 2010). Glukosa dapat diperoleh dengan menghidrolisis ikatan glikosida sehingga dapat digunakan untuk berbagai tujuan, seperti produksi sirup gula, asam organik (Hao *et al*., 2006).

Hidrolisis enzimatik lebih menguntungkan karena kondisi proses lebih lunak (temperatur rendah, pH netral). Selain itu, berpotensi memberikan hasil yang tinggi, dan biaya pemeliharaan peralatan relatif

rendah karena tidak ada bahan yang korosif (Taherzadeh & Karimi, 2007). Hidrolisis selulosa secara mikrobiologis dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme selulolitik salah satunya adalah *S. cerevisiae*.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Amaeze *et al*. (2015) menemukan bahwa *S. cerevisiae* telah terbukti dapat menghasilkan enzim selulase. Enzim selulase yang terdapat di dalam *S. cerevisiae* dapat menghidrolisis ikatan glikosida yang terdapat di dalam selulosa sehingga dihasilkan gula pereduksi (glukosa). Aktivitas *S. cerevisiae* untuk menghasilkan enzim selulase dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti konsentrasi substrat, derajat keasaman (pH), temperatur, dan waktu fermentasi. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan, jumlah sel, dan daya tahan hidup mikroba adalah pH (Amaeze *et al*., 2015; Tang, 2013). Aktivitas *S. cerevisiae* juga dipengaruhi oleh waktu fermentasi, yaitu waktu yang diperlukan oleh *S. cerevisiae* untuk menghasilkan enzim selulase dan membentuk produk hidrolisis (Sokchea *et al*., 2018). Oleh karena itu, diperlukan pH dan waktu fermentasi optimum bagi *S. cerevisiae* yang aktivitasnya ditandai dari produk gula pereduksi yang dihasilkan.

Aktivitas *S. cerevisiae* dalam meng-hidrolisis selulosa dari lignoselulosa dan hemiselulosa dipengaruhi oleh pH dan temperature optimum. Arroyo-López *et al*. (2009) menjelaskan tentang efek dari temperatur, pH, dan konsentrasi gula dalam menghasilkan alkohol (*wine*) yang optimal. *S. cerevisiae* mempunyai pH optimum sebesar 4,76. Pada penelitian lain, Elevri dan Putra (2006) mengemukakan bahwa rentang pH optimum untuk produksi etanol menggunakan *S. cerevisiae* yang dimobilisasi dengan agar batang adalah 4,5. Samsuri *et al*. (2009) menjelaskan bahwa pemanfaatan selulosa dari bagas (limbah padat industri gula) dalam menghasilkan etanol mempunyai derajat keasaman optimum untuk proses fermentasi antara 4-5. Pada pH di bawah 3, proses fermentasi akan berkurang kecepatannya dan hasil yang didapatkan dalam penelitiannya yaitu *S. cerevisiae* mempunyai pH optimum sebesar 5 dan waktu optimum dari kinerja *yeast* adalah 48 jam. Omojasola dan Jilani (2009) menjelaskan *S. cerevisiae* dapat menghidrolisis kulit pisang sehingga menghasilkan glukosa sebesar 0,72±0,03 mg/mL dengan pH 5.

Pada penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pH dan waktu fermentasi optimum aktivitas *S. cerevisiae* dalam menghidrolisis selulosa dari eceng gondok, dilakukan pembuatan kurva pertumbuhan setiap 12 jam selama 156 jam dan uji aktivitas dengan *range* pH antara 3,5 sampai 6 dan waktu fermentasi sesuai fase log dari data kurva pertumbuhan. Penentuan aktivitas *S. cerevisiae* didasarkan

pada kemampuannya dalam menghidrolisis selulosa pada eceng gondok, setelah proses delignifikasi, menjadi gula pereduksi. Kadar gula pereduksi ditentukan dengan metode DNS yang menerapkan metode gula pereduksi dan diperoleh nilai absorbansi dari uji Spektrofotometer UV-Vis.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *S. cerevisiae* yang diadaptasikan pada media fermentasi eceng gondok dan memperoleh data kadar gula pereduksi dari aktivitas *S. cerevisiae* dalam menghidrolisis eceng gondok pada variasi pH dan waktu fermentasi yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah biakan murni khamir *S. cerevisiae* FNCC: 3012, Eceng gondok, NaOH (*Merck*), H_2SO_4 (*Merck*), Aquades, media PDB (*Potato Dextrose Broth*) (*Oxoid*), CMC (*Carboxymethyl cellulose*) (*Merck*), Pepton (*Oxoid*), Yeast (*Merck*), $(NH_4)_2SO_4$ (*Merck*), $CaCl_2$ (*merck*), $MgSO_4$ (*merck*), $FeSO_4$ (*Merck*), buffer asetat 0,05M pH 5, Asam 3,5 – dinitrosalisilat (*Merck*), fenol (*Merck*), KNa-tartat (*Merck*), Na_2SO_3 (*Merck*), glukosa (Merck). Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: alat-alat gelas laboratorium kimia, lampu spirtus, *autoclave* (*Yimura HVE 50*), penangas air, inkubator *shaker* (*Memmert waterbath shaking Model WBN14*), mikropipet (*Corning 4075 Lambda Plus Single-Channel Pipettor*), aluminium foil, spektrofotometer UV-Vis (*PG Instrumen Limited Model T60U*), kuvet, neraca analitik (*Ohaus Pioneer PA214 Analytical Balance*), oven, kompor listrik, kertas label, pH meter (*Mettler Toledo*), korek api, kertas saring, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, blender (*Phillips*), kapas, Erlenmeyer (*Pyrex*), kain kasa, botol semprot, pipet tetes, botol vial, dan pengaduk.

Alat-alat dari kaca dibungkus menggunakan alumunium foil dan plastik lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 20 menit, termasuk dalam hal ini media fermentasi CMC (*Carboxymethyl cellulose*), PDB (*Potato Dextrose Broth*), dan eceng gondok.

Eceng gondok yang sudah dikeringkan ditambahkan NaOH (2% w/v), kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 3 jam (Hamisan *et al*., 2009). Larutan disaring dengan kertas saring, selanjutnya residu larutan yang merupakan eceng gondok bebas lignin dicuci dengan aquades hingga pH residu netral. Pada filtrat hasil delignifikasi dilakukan tahap pengujian lignin secara kualitatif dengan menggunakan $FeCl_3$. Eceng gondok bebas lignin dikeringkan di dalam oven dan diblender hingga berbentuk serbuk. Serbuk tersebut yang digunakan untuk uji lanjutan.

Peremajaan dan pengadaptasian *S. cerevisiae* ke media modifikasi. Sebanyak

satu jarum ose khamir *S. cerevisiae* diambil dari biakan induk dan digoreskan pada media PDA secara aseptik, kemudian difermentasi selama 96 jam dengan suhu ruang. Tahap selanjutnya, secara aseptik *S. cerevisiae* yang tumbuh di media PDA dipindahkan ke dalam 100 mL media fermentasi PDB yang telah disterilkan, kemudian diletakkan pada alat *shaker* pada suhu ruang selama 96 jam sampai khamir tumbuh.

Tabel 1
Media Fermentasi PDB

Bahan	Komposisi(g/L)
Yeast extract	3
Pepton	2
PDB	1
$(NH_4)SO_4$	0,2
$CaCl_2$	0,2
$MgSO_4$	0,05
$FeSO_4$	0,01
Buffer	Sampai 100 mL
Akuades	50

Sebanyak 1,5 mL inokulum khamir *S. cerevisiae* yang telah tumbuh di media fermentasi PDB dipindahkan secara aseptik ke 100 mL media fermentasi CMC yang telah disterilkan dan kemudian di*shaker* pada suhu ruang selama 96 jam sampai khamir tersebut tumbuh (Tabel 2).

Sebanyak 1,5 mL khamir yang tumbuh pada media fermentasi CMC kemudian dipindahkan secara aseptik ke 100 mL media fermentasi substrat eceng gondok (CMC diganti dengan eceng gondok) yang telah disterilkan dan di*shaker* pada suhu ruang selama 96 jam sampai khamir tumbuh.

Tabel 2
Media Fermentasi CMC

Bahan	Komposisi (g/L)
Yeast extract	3
Pepton	2
CMC	1
$(NH_4)SO_4$	0,2
$CaCl_2$	0,2
$MgSO_4$	0,05
$FeSO_4$	0,01
Buffer	Sampai 100 ml
Akuades	50

Tabel 3
Media Fermentasi Eceng Gondok

Bahan	Komposisi (g/L)
Yeast extract	3
Pepton	2
Eceng gondok	0,3
$(NH_4)SO_4$	0,2
$CaCl_2$	0,2
$MgSO_4$	0,05
$FeSO_4$	0,01
Buffer	Sampai 100 ml
Akuades	50

Pembuatan kurva pertumbuhan. Sebanyak 39 (26 untuk sampel duplo, 13 tabung untuk control) dan buah botol vial 120 mL masing-masing diisi dengan 30 mL media eceng gondok dalam buffer asetat pH 5 kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 20 menit, setelah dingin,

26 buah botol vial 120 mL masing-masing ditambahkan 0,3 mL inokulum khamir *S. cerevisiae* secara aseptik sebagai sampel dan 13 buah botol vial 120 ml lainnya sebagai kontrol, yang tidak perlu diinokulasikan dengan *S. cerevisiae*. Tiga puluh sembilan botol vial 120 ml tersebut di-*shaker* pada suhu ruang, selanjutnya sampel diambil tiap 12 jam sekali selama kurun waktu 156 jam untuk diukur kekeruhannya. Penentuan pertumbuhan khamir *S. cerevisiae* dilakukan dengan mengukur kekeruhan dengan Spektrofotometer UV-Vis. Data yang didapatkan adalah absorbansi yang diplotkan terhadap waktu sehingga akan diperoleh grafik absorbansi vs waktu.

Pembuatan starter. Sebanyak 1,5 mL inokulum khamir *S. cerevisiae* diambil dan ditempatkan secara aseptik pada erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media cair yang telah disterilkan untuk pembuatan starter. Erlenmeyer tersebut di-*shaker* pada suhu ruang selama kurun waktu tertentu (berdasarkan hasil dari data kurva pertumbuhan).

Fermentasi khamir *S. cerevisiae* pada media eceng gondok dengan variasi pH dan waktu fermentasi. Sebanyak 12 buah botol vial 120 mL yang berisi 30 mL media fermentasi eceng gondok disterilkan, kemudian sebanyak 0,3 mL inokulum *S. cerevisiae* (dari starter) diambil dan ditempatkan ke dalam masing-masing botol vial tersebut secara aseptik. Semua botol vial diinkubasi selama waktu tertentu (fase log dari data kurva pertumbuhan), selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pH terhadap aktivitas *S. cerevisiae* dalam menghidrolisis eceng gondok, pH buffer asetat yang digunakan dalam media fermentasi dibuat bervariasi yaitu 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; dan 6. Langkah selanjutnya adalah pengukuran kadar gula pereduksi dari proses fermentasi di atas menggunakan metode DNS. Pengukuran kadar gula pereduksi dilakukan setiap 12 jam sekali sampai jam ke-48.

Uji aktivitas *S. cerevisiae* dalam menghidrolisis eceng gondok dengan variasi waktu fermentasi dan pH. Pengujian aktivitas *S. cerevisiae* dalam menghidrolisis eceng gondok dilakukan dengan cara mengambil 1 mL hasil fermentasi dari perlakuan sebelumnya, kemudian ditambahkan 1 mL larutan DNS digojog dan dipanaskan dalam air mendidih, selama 10 menit, selanjutnya campuran didinginkan dan diencerkan hingga 10 mL, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum (489 nm) dengan Spektrofotometer UV-Vis. Sebagai larutan kontrol dilakukan dengan metode yang sama, tetapi menggunakan larutan fermentasi yang dipanaskan terlebih dahulu. Pada larutan standar glukosa dilakukan dengan metode yang sama dan menggunakan larutan glukosa dengan variasi konsentrasi

dari 0,5 sampai 5 mg/mL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Delignifikasi eceng gondok. Di alam, selulosa selalu berikatan dengan lignin dan hemiselulosa membentuk suatu lignoselulosa. Keberadaan lignin akan menghambat proses hidrolisis selulosa karena lignin merupakan molekul kompleks yang terdiri atas unit-unit fenilpropana yang umumnya sulit didegradasi (Taherzadeh & Karimi, 2007). Serbuk eceng gondok dilarutkan dengan larutan NaOH agar lignin dapat larut dan selulosa dapat mengendap. Selulosa mengendap pada kondisi alkali sehingga dengan penambahan NaOH, selulosa akan mengendap (Richana dkk., 2007). Lignin dalam larutan NaOH akan membentuk garam fenolat yang larut dalam air. Garam fenolat terbentuk maka ikatan antara selulosa dengan lignin akan lepas sehingga diperoleh selulosa dalam keadaan bebas lignin.

Pada filtrat hasil delignifikasi dilakukan tahap pengujian lignin secara kualitatif dengan menggunakan FeCl3. Tujuan dilakukan pengujian ini untuk mengetahui ada/tidaknya lignin yang masih terkandung dalam eceng gondok hasil delignifikasi. Umumnya unit-unit fenilpropana penyusun lignin merupakan jaringan senyawa dengan gugus fenol (alkohol aromatik). Analisa dengan menambahkan FeCl3 untuk mendeteksi adanya senyawa dengan gugus fenol. Reaksi positif jika hidrolisat yang ditambahkan larutam FeCl3 memberikan perubahan warna merah hingga keunguan.

Gambar 1 memperlihatkan bahwa pada hasil filtrat penyaringan pH 14 setelah ditetesi FeCl3 terjadi perubahan warna menjadi merah bata. Warna merah bata yang timbul disebabkan karena hidrogen pada gugus –OH fenol, disubtitusi oleh FeCl2 dan karena Fe merupakan golongan transisi, berikatan dengan fenol menjadi kompleks fenolat yang menyebabkan perubahan warna. Kesimpulan dari hasil yang diperoleh, pada pH 14 membuktikan bahwa lignin larut bersama filtrat (air hasil penyaringan delignifikasi) yang berarti selulosa dan lignin dari eceng gondok sudah terpisah Park *et al*.(2015).

Peremajaan dan pengadaptasian *Saccharomyces cerevisiae* dalam media fermentasi. Peremajaan *S. cerevisiae* dilakukan agar *S. cerevisiae* aktif saat digunakan dan maksimal perannya. Pengadaptasian *S. cerevisiae* pada media pertumbuhan dilakukan secara bertahap. Media awal dari biakan murni *S.cerevisiae* adalah PDA sehingga adaptasi diawali dari media PDA ke media fermentasi PDB. Adaptasi *S. cerevisiae* ke media fermentasi PDB ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan bahwa adaptasi pada media fermentasi PDB mampu tumbuh dengan baik. Tahap adaptasi selanjutnya

Gambar 1
Hasil Uji Kualitatif Lignin pada Eceng Gondok

Tabel 4
Data Pertumbuhan S. cerevisiae pada Media PDB

Bentuk Fisik	Hasil Pengamatan	
	Kontrol	Kultur
Miselium semu yang mengambang	Tidak tumbuh	Tumbuh
Berwarna keruh	Tidak tumbuh	Tumbuh

adalah media fermentasi PDB ke media fermentasi CMC untuk adaptasi selanjutnya dari *S. cerevisiae* pada sumber karbonnya, yaitu dari kentang dan dekstrosa ke CMC. Adaptasi *S. cerevisiae* ke media CMC ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5 menunjukkan bahwa adaptasi pada media fermentasi CMC mampu tumbuh dengan baik dan dapat digunakan untuk proses adaptasi selanjutnya. *S.cerevisiae* yang tumbuh pada media fermentasi CMC kemudian diadaptasikan kembali menggunakan sumber karbon yang dituju yaitu eceng gondok. Tujuan dari tahap adaptasi ini adalah agar *S. cerevisiae* dapat tumbuh dengan baik pada substrat yang diharapkan dan enzim yang paling banyak dihasilkan adalah enzim selulase. Hasil fermentasi dari media fermentasi eceng gondok dapat dilihat pada Tabel 6. Tabel 6 menunjukkan bahwa pada media fermentasi eceng gondok, *S.cerevisiae* mampu tumbuh

Tabel 5
Data Pertumbuhan S. cerevisiae pada Media CMC

Bentuk Fisik	Hasil Pengamatan	
	Kontrol	Kultur
Miselium semu yang mengambang	Tidak Tumbuh	Tumbuh
Berwarna keruh	Tidak Tumbuh	Tumbuh

Tabel 6
Data Pertumbuhan S. cerevisiae pada Media Eceng Gondok

Bentuk Fisik	Hasil Pengamatan	
	Kontrol	Kultur
Miselium semu yang mengambang	Tidak Tumbuh	Tumbuh
Berwarna keruh	Tidak Tumbuh	Tumbuh

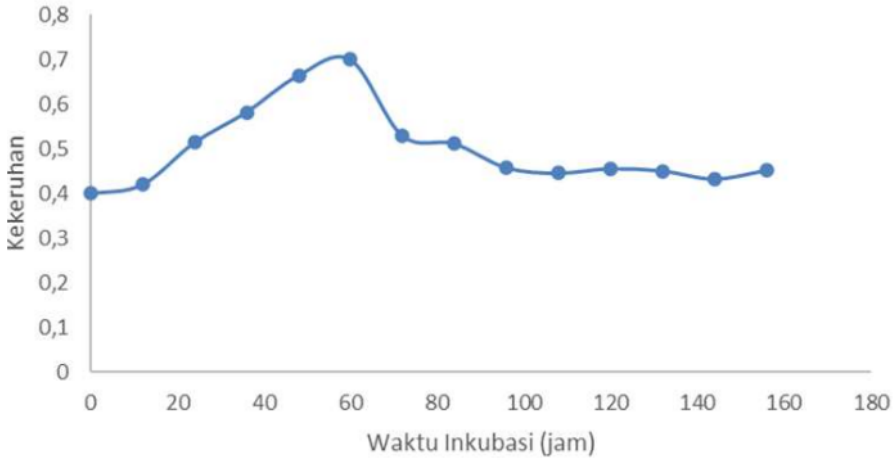
dengan baik.

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan metode kekeruhan yaitu dengan melihat perubahan media fermentasi yang semakin mengeruh selama 156 jam. *S. cerevisiae* dalam media cair diambil setiap 12 jam untuk kemudian diambil sebanyak kurang lebih 10 mL dan diukur absorbansinya. Kurva pertumbuhan *S. cerevisiae* disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada jam ke-0 sampai jam ke-24 merupakan fase adaptasi (*fase lag*). Pada *fase lag* mikroba tidak hanya bertambah biomassanya, ukuran sel s. cereviseae juga mengalami peningkatan serta terjadi perubahan komposisi kimia dari bakteri tersebut (Hidayatulloh dkk., 2019). Pada fase ini khamir masih beradaptasi dengan nutrien di lingkungan yang baru sehingga pertumbuhan khamir belum optimal. *S. cerevisiae* mulai membelah diri dengan kecepatan rendah. Pada jam ke-24 sampai jam ke-60 merupakan fase eksponensial yang ditandai dengan kenaikan massa sel dari *S. cerevisiae* yang cukup besar. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pada range waktu tersebut *S. cerevisiae* membelah dengan sangat cepat. *S. cerevisiae* dapat cepat beradaptasi pada nutrien di lingkungan yang baru karena eceng gondok memiliki kandungan nutrien baik makronutrien maupun mikronutrien yang sesuai untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* agar dapat tumbuh optimal.

Fase log merupakan fase ketika bakteri mengalami pertumbuhan yang sangat cepat dan mengalami pertumbuhan secara

Gambar 2
Grafik Kurva Pertumbuhan S. cerevisiae



eksponensial. Bakteri memperbanyak diri dengan cepat dan konstan menjadi dua kali dari populasi sebelumnya. Pada fase logaritmik kebutuhan energi dan nutrisi juga meningkat dibanding fase yang lainnya. Pada fase logaritmik hingga awal fasa stasioner umumnya bakteri menghasilkan banyak senyawa metabolit primer yang dibutuhkan oleh bakteri itu sendiri (Brooks *et al*., 2004). Pada jam ke-60 sampai jam ke-156 merupakan fase kematian yang terlihat dari berkurangnya massa sel. Hal ini mengindikasikan bahwa jumlah sel *S.cerevisiae* yang mati sudah banyak dikarenakan kekurangan nutrisi dan dihasilkannya metabolit sekunder yang bersifat toksik (Srikandace dkk., 2007).

Berdasarkan Gambar 2, dapat diketahui bahwa waktu yang tepat untuk panen sel *S. cerevisiae* agar dapat digunakan untuk proses fermentasi selanjutnya yaitu pada jam ke-48 yang berada pada fase eksponensial. Pada fase ini, pertumbuhan sel *S. cerevisiae* yang paling maksimal sehingga pada fase ini juga akan dihasilkan enzim yang maksimal.

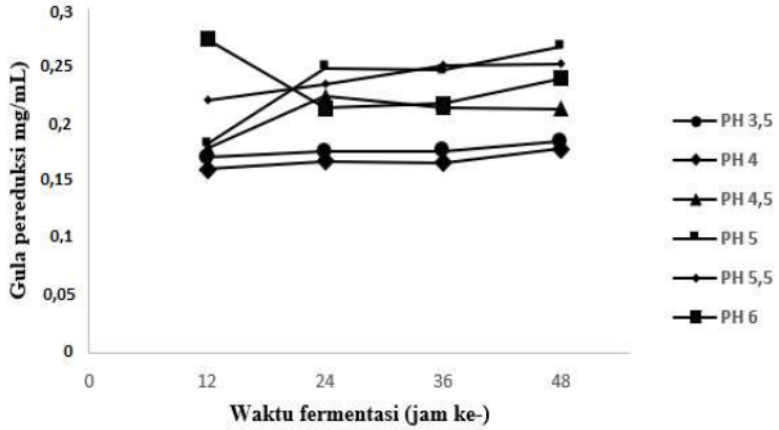
Uji aktivitas saccharomyces cerevisiae dalam menghidrolisis eceng gondok dengan variasi waktu fermentasi pada pH 5. Pada penelitian ini, produk yang dihasilkan diukur dan diuji dengan metode gula pereduksi menggunakan metode DNS (*Dinitrosalicylic acid*) melalui pengukuran absorbansi pada sampel hasil degradasi eceng gondok yang diambil setiap 12 jam sekali dari jam ke-12 hingga jam ke-48. Aktivitas *S. cerevisiae* dalam

menghidrolisis selulosa dipengaruhi oleh pH dan waktu fermentasi. Salah satu faktor utama yaitu pH yang berperan dalam tingkat pertumbuhan mikroorganisme dan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat (Arroyo-López, 2009). Pada pH dan waktu fermentasi yang optimum, aktivitas *S. cerevisiae* akan optimal dengan ditunjukkan dari hasil hidrolisis dengan profil gula pereduksi paling tinggi.

Dilihat dari profil gula pereduksi pada berbagai variasi pH dan waktu fermentasi menunjukkan bahwa kadar gula pereduksi pada tiap pH dari 3,5 sampai 6 yang dilihat dari inkubasi 12 jam sampai 48 jam memiliki profil yang berbeda. *S. cerevisiae* menunjukkan aktivitasnya menghidrolisis selulosa pada tiap pH, dengan dihasilkannya gula pereduksi yang bervariasi. Grafik kadar gula pereduksi pada berbagai variasi pH seperti terlihat pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* melakukan aktivitasnya pada semua pH dan menghasilkan gula pereduksi sebagai produk hidrolisis. Profil gula pereduksi yang dihasilkan pada awal fermentasi merupakan hasil hidrolisis dari inokulum yang berasal dari media stater berusia 48 jam (berdasarkan kurva pertumbuhan). Inokulum pada usia tersebut merupakan usia produktif dengan pertumbuhan sel *S. cerevisiae* yang paling maksimal sehingga diharapkan *S. cerevisiae* dapat mensekresikan enzim selulolitik untuk menghidrolisis eceng gondok dan dapat menghasilkan gula pereduksi.

Gambar 3
Grafik Profil Gula Pereduksi Pada Berbagai Variasi pH



Berdasarkan data profil gula pereduksi yang ditunjukkan dari Gambar 3, pada pH 5 menunjukkan profil pH yang paling efisien untuk menghidrolisis eceng gondok dibandingkan pH lain. Hal tersebut dikarenakan pada pH 5 sudah menunjukkan kadar gula pereduksi sebesar 0,248 mg/mL pada jam ke-24. Walaupun pada pH 4,5 mempunyai pola profil gula pereduksi yang hampir sama; namun waktu fermentasi yang dibutuhkan pH 4,5 untuk mencapai profil gula pereduksi optimum lebih lama dibandingkan pH 5. Gula pereduksi tersebut merupakan hasil hidrolisis dari eceng gondok sebanyak 0,3 gram. Hal ini menunjukkan bahwa pada pH 5 merupakan kondisi pH optimum *S. cerevisiae* dalam mensintesis kompleks enzim selulotik (khususnya selulase) yang mampu menghidrolisis eceng gondok dan pada jam ke-48 merupakan waktu fermentasi optimum. *S.cerevisiae* menghasilkan enzim selulolitik yang digunakan untuk menghidrolisis eceng gondok menjadi gula pereduksi dalam jumlah banyak. Aktivitas *S. cerevisiae* dalam menghasilkan gula pereduksi sangat dipengaruhi oleh pH. Pada pH 4,5; 5; 5,5; dan 6 profil gula pereduksi yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan pada pH 3,5 dan 4. Hal ini disebabkan pada pH yang lebih asam kemampuan *S. cerevisiae* dalam menghasilkan enzim untuk menghidrolisis selulosa menjadi berkurang dibandingkan dengan pH yang lebih basa. Pada pH yang rendah, membran sel menjadi jenuh oleh ion hidrogen sehingga membatasi transport membran. Keracunan yang terjadi pada pH rendah adalah karena sebagian substansi asam yang tidak terurai meresap ke dalam sel sehingga terjadi ionisasi dan pH sel berubah. Perubahan ini menyebabkan proses pengiriman asam-asam amino dari RNA terhambat sehingga menghambat pertumbuhan dan bahkan dapat membunuh mikroba (Liu *et al*., 2015).

SIMPULAN

Pada penelitian ini diperoleh *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat tumbuh pada media fermentasi eceng gondok. Aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* dalam menghidrolisis eceng gondok dalam menghasilkan gula pereduksi sebesar 0,267 mg/mL dari 0,3 gram eceng gondok optimum pada pH 5 dan waktu fermentasi jam ke-48.

DAFTAR PUSTAKA

Afriani, M. (2012). *Pengaruh fermentasi dan konsentrasi ragi rot terhadap kadar bioetanol dari fermentasi glukosa hasil hodrolisis selulosa tandan kosong kelapa sawit*. Departemen Kimia Universitas Sumatra Utara.

Amaeze N. J., Okoliegbe I. N., & Francis, M. E. (2015). Cellulase production by Aspergillus niger and Saccharomyces cerevisiae using fruit wastes as substrates. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res. P.*, 36-44.

Arroyo-López, F. N., Orlić, S., Querol, A., & Barrio, E. (2009). Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of Saccharomyces cerevisiae, S. kudriavzevii and their interspecific hybrid. *International journal of food microbiology*, *131*(2-3), 120-127.

Artati, E. K., Effendi, A., & Haryanto, T. (2009). Pengaruh konsentrasi larutan pemasak pada proses delignifikasi eceng gondok dengan proses organosolv. *Ekuilibrium*, *8*(1), 25-28.

Brooks, G. F., Butel, J. S., Ornston, L. N., Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2004). Medical parasitology. *Medical Microbiology,* 727-731.

Deshpande, S. K., Bhotmange, M. G., Chakrabarti, T., & Shastri, P. N. (2008). Production of cellulase and xylanase by trichoderma reesei (QM 9414 Mutant), Aspergillus niger and mixed culture by Solid State Fermentation (SSF) of water hyacinth (Eichhornia crassipes). *Indian Journal of Chemical Technology*, *15*, 449-456.

Elevri, P. A., & Putra, S. R. (2006). Produksi etanol menggunakan saccharomyces cerevisiae yang diamobilisasi dengan agar batang. *Akta Kimia Indonesia*, *1*(2), 105-114.

Hamisan, A. F., Abd-Aziz, S., Kamaruddin, K., Shah, U. K. Md., Shahab, N., & Hassan, M. A. (2009). Delignification of oil palm empty fruit bunch using chemical and microbial pretreatment methods. *International Journal of Agricultural Research*, *4*(8), 250-256.

Hao, X. C., Yu, X. B., & Yan, Z-L. (2006). Optimization of the medium for the production of cellulase by the mutant Trichoderma reesei WX-112 using response surface methodology. *Food Technology & Biotechnology*, *44*(1), 89-94.

Hidayatulloh, A., Gumilar, J., & Harlia, E. (2019). Potensi senyawa metabolit yang dihasilkan lactobacillus plantarum ATCC 8014 sebagai bahan biopreservasi dan anti bakteri pada bahan pangan asal hewan. *JITP*, *7*(2), 1-6.

Ja'afaru, M. I., & Fagade, O. E. (2010). Optimization studies on cellulase enzyme production by an isolated strain of aspergillus niger YL 128. *African Journal of Microbiology Research*, *4*(24), 2635-2639.

Kamara, D. S., Rachman, S. D., & Gaffar, S. (2006). *Degradasi enzimatik selulosa dari batang pohon pisang untuk produksi enzim selulase dari kapang trichoderma viride* (Skripsi tidak diterbitkan). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Bandung.

Kamoldeen, A. A., Alhasan S., Ganiyu P. O., Risikat, N. A., Arefcemase, M. O., Mutiat, B. O. O., & Laba, S. A. (2013). Cellulase production potentials of the microbial profile of some sugarcane bagasse dumping sites in Ilorin, Nigeria. *Notulae Scientia Biologicae*, *5*(4):445-449.

Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., Zhao, F., Zhan, J., & Huang, W. (2015). Effect of initial pH on growth characteristics and fermentation properties of Saccha-romyces cerevisiae. *Journal of Food Science*, *80*(4), M800-M808.

Omojasola, P. F., & Jilani, O. P. (2009). Cellulase production by Trichoderma longi, Aspergillus niger and Saccharomyces cerevisiae cultured on plantain peel. *Research Journal of Microbiology*, *4*(2), 67-74.

Park, J., Shin, H., Yoo, S., Zoppe, J. O., & Park, S. (2015). Delignification of lignocellulosic biomass and its effect

on subsequent enzymatic hydrolysis, *BioRes., 10*(2), 2732-2743.

Puttaswamy, C. T., Sagar, B. R., Simha, U., Manjappa, S., & Kumar, C. V. (2016). Production of bioethanol from lignocellulosic biomass. *Indian Journal of Advances in Chemical Science S1,* 239-244.

Ramanathan, G., Banupriya, S., & Abirami, D. (2010). Production and optimization of cellulase from fusarium oxysporum by submerged fermentation. *Journal of Scientific and Industrial Research*, *69*, 454-459.

Richana, N., Irawadi, T. T., Nur, M. A., Sailah, I., Syamsu, K., & Arkenan, Y. (2007). Ekstraksi xilan dari tongkol jagung, *J. Pascapanen*, 4(1), 38-43.

Samsuri, M., Gozan, M., Wijarnako, A., Hermansyah, A., Wulan, P. P. D. K., Dianursanti, Nasikin, M., & Prasetya, B. (2009). Hydrolysis of bagasse by cellulase and xylanase for bioethanol production in simultaneous saccharification and fermentation, *J. Appl & Industrial Biotechnol.*, 2, 1-6.

Sharma, A., & Aggarwal, N. K. (2020). *Water hyacinth: A potential lignocellulosic biomass for bioethanol*. Springer.

Sharma, S., Sarma, S. J., & Brar, S. K. (2020). Isolation of fungus from roots of water hyacinth and cellulase production by the microorganism from cardboard waste. *International Journal of Environment and Health Sciences*, *2*(2), 87-96.

Sokchea, H., Thi Hang, P., Dinh Phung, L., Duc Ngoan, L., & Thu Hong, T. (2018). Effect of time, urea and molasses concentration on Saccharomyces cerevisiae biomass production. *J Vet Ani Res*, *1*(1), 104.

Srikandace, Y., Hapsari, Y., & Simanjuntak, P. (2007). Seleksi mikroba endofit curcuma zedoria dalam memproduksi senyawa kimia antimikroba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *5*(2), 77-84.

Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *BioResources*, *2*(3),472-499.

Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2007). Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review, *Bioresources*, *2*(4),707-738.

Tang, H., Hou, J., Shen, Y., Xu, L., Yang, H., Fang, X., & Bao, X. (2013). High ${\beta} $-Glucosidase secretion in saccharomyces cerevisiae improves the efficiency of cellulase hydrolysis and ethanol production in simultaneous saccharification and fermentation. *Journal of microbiology and biotechnology*, *23*(11), 1577-1585.

PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS Saccharomyces cerevisiae DALAM MENGHIDROLISIS ECENG GONDOK (Eichhornia crassipes)

ORIGINALITY REPORT

15%	13%	5%	3%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	erepo.unud.ac.id Internet Source	1%
2	repository.unimus.ac.id Internet Source	1%
3	repository.unibos.ac.id Internet Source	1%
4	jurnal.ugm.ac.id Internet Source	1%
5	indomarketerz.blogspot.com Internet Source	1%
6	natureoftechsite.wordpress.com Internet Source	1%
7	Submitted to Universitas Hasanuddin Student Paper	1%
8	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	1%
	repository.usu.ac.id	

9	Internet Source	1 %
10	Sefrinus M. D. Kolo, Eduardus Edi. "Hidrolisis Ampas Biji Sorgum dengan Microwave untuk Produksi Gula Pereduksi sebagai Bahan Baku Bioetanol", Jurnal Saintek Lahan Kering, 2018 Publication	<1 %
11	Submitted to UIN Syarif Hidayatullah Jakarta Student Paper	<1 %
12	www.ojs.jmolekul.com Internet Source	<1 %
13	kopyorklapa.blogspot.com Internet Source	<1 %
14	eprints.ums.ac.id Internet Source	<1 %
15	pascapanen.litbang.deptan.go.id Internet Source	<1 %
16	Rizka Widasari, Mukarlina Mukarlina, Zulfa Zakiah. "Pertumbuhan Biji Buah Naga (Hylocereus Polyrhizus) dengan Pemberian NAA dan Ekstrak Biji Jagung (Zea Mays) secara In Vitro", JURNAL BIOS LOGOS, 2021 Publication	<1 %
17	documents.mx Internet Source	<1 %

18	jurnal.unpad.ac.id Internet Source	<1 %
19	mafiadoc.com Internet Source	<1 %
20	nhanaunyuunyu.wordpress.com Internet Source	<1 %
21	jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id Internet Source	<1 %
22	Hardianto -, Anton Muhibuddin, Antok Wahyu Sektiono. "Optimalisasi Fosfat untuk Meningkatkan Pertumbuhan Kerapatan Populasi dan Kemampuan Antagonis Saccharomyces cerevisiae terhadap Fusarium sp.", SAINTEKBU, 2018 Publication	<1 %
23	Khairul Syahputra, Iman Rusmana, Utut Widyastuti. "ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI DENITRIFIKASI SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI NITROGEN ANORGANIK", Jurnal Riset Akuakultur, 2011 Publication	<1 %
24	Sandra Aulia Mardikasari. "Preparasi dan Karakterisasi Mikroenkapsulasi Asam Mefenamat Menggunakan Polimer Kitosan dan Natrium Alginat dengan Metode Gelasi	<1 %

	Ionik", Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal), 2020 Publication	
25	doku.pub Internet Source	<1 %
26	httpwwwgodamagaputra.blogspot.com Internet Source	<1 %
27	jurnal.balitbangda.lampungprov.go.id Internet Source	<1 %
28	jurnal.fp.unila.ac.id Internet Source	<1 %
29	lordbroken.wordpress.com Internet Source	<1 %
30	rossyblackmonster.blogspot.com Internet Source	<1 %
31	www.neliti.com Internet Source	<1 %
32	www.scielo.br Internet Source	<1 %
33	bisikanbisnis.wordpress.com Internet Source	<1 %
34	ejournal.kemenperin.go.id Internet Source	<1 %
35	journal.iainkudus.ac.id Internet Source	<1 %

36	journal.ui.ac.id Internet Source	<1 %
37	jurnal.unsyiah.ac.id Internet Source	<1 %
38	kimia.fsm.undip.ac.id Internet Source	<1 %
39	library.unmas.ac.id Internet Source	<1 %
40	repozitorij.uni-lj.si Internet Source	<1 %
41	tesisenred.net Internet Source	<1 %
42	www.kumpulanpengertian.com Internet Source	<1 %
43	digilib.uinsgd.ac.id Internet Source	<1 %
44	teknologilaboratoriummedik.blogspot.com Internet Source	<1 %

Exclude quotes	Off	Exclude matches	Off
Exclude bibliography	On		