

JURNAL

PRODUKSI ALKOHOL OLEH *Saccharomyces cerevisiae* DENGAN *PRE-TREATMENT* MENGGUNAKAN EKSTRAK JAHE (*Zingiber officinale* Rosco.)

Disusun oleh:
Yulian Rozi
NPM: 130801335



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017**

PRODUKSI ALKOHOL OLEH *Saccharomyces cerevisiae* DENGAN PRE-TREATMENT MENGGUNAKAN EKSTRAK JAHE (*Zingiber officinale* Rosco.)

Production of Alcohol by *Saccharomyces cerevisiae* with Pre-treatment using Ginger Extract (*Zingiber officinale* Rosco.)

Yulian Rozi¹, Boy Rahardjo Sidharta², Yuliani Reni Swasti³
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Jl. Babarsari no 44 Yogyakarta
rozixd@gmail.com

Intisari

Penggunaan bahan bakar minyak yang tinggi menyebabkan persediaan minyak bumi menipis, sehingga banyak dicari sumber bahan bakar alternatif. Salah satu sumber bahan bakar alternatif adalah bioetanol. Bioetanol sendiri produksinya masih dikembangkan, salah satu pengembangannya berupa penggunaan galur mikrobial penghasil etanol, seperti *Saccharomyces cerevisiae*. Pada penelitian ini dilakukan pengembangan galur *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan ekstrak jahe (*Zingiber officinale*). Ekstrak jahe digunakan karena adanya kandungan gingerol yang dapat mengubah susunan DNA sel, hal ini diharapkan dapat mengubah susunan genetik *S. cerevisiae* sehingga tercipta galur baru. Ekstrak jahe digunakan untuk *pre-treatment* pada *S. cerevisiae*. Ekstrak jahe yang digunakan memiliki konsentrasi yang berkisar dari 5, 10, dan 15%. Minyak jahe 10% juga digunakan sebagai kontrol positif. *S. cerevisiae* yang sudah diberi perlakuan *pre-treatment* kemudian digunakan untuk melakukan fermentasi pada molase selama 72 jam. Setelah 72 jam, didapati bahwa produksi alkohol dari perlakuan kontrol negatif, kontrol positif, jahe 5%, jahe 10%, dan jahe 15% berturut-turut adalah 5,134; 4,52; 4,682; 4,396; dan 4,528 %. Namun, berdasarkan hasil ANAVA tidak diperoleh adanya beda nyata dari tiap perlakuan.

Kata kunci : Jahe, *Saccharomyces cerevisiae*, kadar etanol, fermentasi, bioetanol, pengembangan galur, *pre-treatment*.

Abstract

*The consumption of fossil fuel has made the oil reserve on earth depleting, thus the search for alternative fuel became important. One of which is bioethanol. The production of bioethanol is still undergone some development, one of which is developing the strain of the fermentor microbes such as *Saccharomyces cerevisiae*. In this research, strain development of *S. cerevisiae* will be done using ginger extract (*Zingiber officinale*). Ginger extract is used because of the presence of gingerol in ginger that have properties that can affect the sequence of DNA in the cell, it is expected that such properties will affect the genetic properties of *s. cerevisiae* thus creating a new strain. Ginger extract will be used in pre-treatment on *S. cerevisiae* at the concentration range of 5, 10, and 15%, also using ginger oil at 10% for positive control. The pretreated *S. cerevisiae* will then be used to ferment molasses for 72 hours. After 72 hours, results showed that the production of alcohol by *S.cerevisiae* with pre-treatment of negative control (no ginger), positive control, ginger 5, 10, and 15% respectively were 5,134; 4,52; 4,682; 4,396; and 4,528 %. However, the ANAVA analysis result showed that there is no significant differences between each treatment.*

*Keyword : ginger, *S. cerevisiae*, ethanol concentration, fermentation, bioethanol, strain development, pretreatment.*

I. PENDAHULUAN

Penggunaan bahan bakar minyak masih tinggi meskipun saat ini terus dicari alternatif sumber energi lain. Selain permasalahan ketersediaan, BBM juga menimbulkan permasalahan seperti tidak dapat diperbaharui dan menimbulkan pencemaran. Menurut Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral (2012), pada tahun 2012, produksi bahan bakar minyak pertahun adalah 25,968 kL, sedangkan konsumsi pertahunnya adalah 61,472 kL, sehingga saat ini banyak diproduksi bahan bakar alternatif seperti etanol. Etanol atau bioetanol sudah dimanfaatkan di Indonesia, yang dimuat pada keputusan menteri Energi dan Sumber Daya Manusia (ESDM) No.6034K/12/MEM/2016 yaitu tentang pencampuran bahan bakar minyak dengan bahan bakar nabati berupa bioetanol, seperti Peralite yang akan dicampur dengan etanol sebesar 10%.

Produksi etanol saat ini populer dilakukan dengan cara fermentasi. Produksi etanol melalui fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* saat ini memiliki banyak kekurangan atau kendala, seperti hasil etanol yang tidak terlalu

tinggi (5-30%) sehingga tidak dapat memenuhi permintaan. Menurut Kemenprin (2016), di Indonesia permintaan etanol pada tahun 2015 sebesar 3 juta kiloliter sedangkan hanya dapat memproduksi 500 ribu kiloliter pada tahun 2015. Optimalisasi produksi etanol umumnya dilakukan dengan rekayasa bioreaktor (contoh: pengaturan tingkat agitasi, aerasi, peningkatan metabolisme (penambahan enzim), dan rekayasa substrat), dan salah satu faktor yang berpengaruh adalah produktivitas *Saccharomyces cerevisiae* itu sendiri. Oleh karena itu, dibutuhkan *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat memproduksi etanol yang lebih tinggi (Singh dan Sharma, 2015).

Perbaikan atau peningkatan sifat yang diharapkan pada suatu mikroorganisme sering disebut dengan pengembangan galur. Pengembangan galur *Saccharomyces cerevisiae* sering dilakukan dengan banyak cara, namun metode mutagenesis dianggap metode paling cepat dan murah (Steensels dkk., 2014). Pada penelitian ini akan dilakukan pengembangan galur menggunakan prinsip yang mirip dengan mutagenesis, yaitu dengan melakukan perlakuan pra fermentasi (*pre-treatment*) pada khamir menggunakan bahan kimia untuk mengubah sifat *S. cerevisiae*. Perubahan sifat yang diharapkan adalah peningkatan kemampuan produksi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae*.

Bahan yang akan digunakan sebagai agen mutagenesis adalah ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Rosco.). Perbedaan dengan penelitian terdahulu menggunakan bahan sintesis yaitu *Dithitritol* dan *Ethylmetanosulfonat* seperti yang dilakukan Singh dan Sharma, 2015; dan Hemmati dkk., 2012..

Ekstrak jahe digunakan karena memiliki kandungan gingerol dan shogaol yang dapat memengaruhi DNA sel, dengan kata lain bersifat mutagen (Lim, 2016). Sifat tersebut disebabkan oleh adanya gugus hidroksi di rantai alipatik 6-gingerol (Nakamura dan Yamamoto, 1983). Sifat tersebut diharapkan dapat diaplikasikan pada *Saccharomyces cerevisiae* dalam peningkatan produksi etanol.

II. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain baskom, blender Philip, oven Ecocell, ayakan 60 *mesh*, soxhlet, *Rotary Evaporator* RV06-ML KIKA WERKE, mikroskop, alkoholmeter Alla France, gelas beker, tabung reaksi, tabung Durham, *vortex* Thermolyne, pisau, lampu spiritus, erlenmeyer, *microtube*, kertas saring, propipet, pipet ukur, mikro pipet, mikro tip, jarum ose, cawan petri, *hand counter*, timbangan analitik Mettler Toledo AL204, autoklaf Hirayama Hiclave HVE-50, inkubator Memmert, *Laminair Air Flow* ESCO-BSC, *centrifuge* Hitachi, Spectrophotometer UV-Vis Shimadzu, *Gas Chromatography* Shimadzu, kertas payung, kapas, *aluminium foil*, karet, gelas pengaduk, sarung tangan, dan masker.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain jahe (*Zingiber officinale* Rosco.) yang dibeli di Pasar Kranggan, biakan *Saccharomyces cerevisiae* FNCC 3012 yang dibeli di Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM, Minyak Jahe sebanyak 1 ml yang dibeli di toko kimia Tekun Jaya, *Potato Dextrose Agar*, *Potato Dextrose Broth*, *methanol* 1L, Dimetil Sulfoksida (DMSO), 8 tetes H₂SO₄ pekat, 6 tetes H₂SO₄ 2N, 2 tetes HCl, 10 ml Kloroform, 6 tetes ammonia, reagen Dragendorf 2 tetes, Wagner 2 tetes, Mayer 2 tetes, 6 tetes asetat anhidrat, 2 tetes FeCl₃, larutan glukosa 9 ml, sukrosa 9 ml, laktosa 9 ml, *phenol red*, 1 tetes *methylene blue*, 1 tetes Ziehl Neelsen (ZN) A (Karbolfuksin), 1 tetes ZN B (HCl-alkohol), 1 tetes ZN C (*Methylene blue*), 900 ml molase, 200 ml nelson A, 8 ml nelson B, 100 ml *arsenomolybdate* dan 5 liter akuades.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan perbandingan kadar ekstrak jahe terhadap hasil produksi etanol. Pada setiap perlakuan diulang sebanyak lima kali sehingga terdapat 25 unit percobaan

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian meliputi ekstraksi jahe, uji fitokimia, uji kemurnian, *pre-treatment*, uji viabilitas, fermentasi, uji gula reduksi, dan pengukuran kadar alkohol menggunakan kromatografi gas. Selanjutnya hasil kadar alkohol dianalisis menggunakan ANAVA lalu untuk mengetahui letak beda nyata digunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Uji Fitokimia

Percobaan awalnya dilakukan dengan mengekstrak jahe yang akan digunakan untuk *pretreatment* pada *Saccharomyces cerevisiae*. Ekstraksi dilakukan dengan mengeringkan jahe terlebih dahulu kemudian dilanjutkan dengan sokhletasi yang diikuti destilasi (Hasan dkk., 2012). Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Rendemen Ekstraksi Jahe (*Zingiber officinale* Rosco.)

Tahapan	Berat Awal	Berat Akhir	Rendemen
Pengeringan	1.750 g	216 g	
Sokhletasi-RE	40 g	5,97 g	14,92 %

Keterangan : tahapan pengeringan tidak dihitung rendemennya.

Pada proses pengupasan, jahe 2 kg kehilangan berat menjadi 1,75 kg. Setelah dikeringkan, jahe kehilangan banyak berat menjadi 216 g. Menurut Hasan dkk (2012), jahe akan kehilangan banyak berat saat pengeringan karena sebagian besar kandungan jahe adalah air. Oleh karena itu, sebagian besar kandungan air pada jahe hilang pada saat pengeringan sehingga menyisakan jahe kering sebanyak 216 g. Jahe kering kemudian dihaluskan dan diayak.

Ekstraksi dilakukan menggunakan metanol yang bersifat semi polar. Sifat semi polar tersebut menyebabkan metanol dapat melarutkan senyawa polar dan beberapa senyawa nonpolar (Hasan dkk., 2012). Oleh karena itu, metanol dapat

digunakan untuk mengekstrak senyawa target yaitu gingerol yang bersifat polar namun terikat dalam minyak oleoresin (Bode dan Dong, 2011).

Pada sokhletasi dan evaporasi dilakukan pada suhu 70 °C, yaitu di atas titik didih metanol (64,5 °C), yang menurut Hasan dkk (2012) berfungsi agar pelarut lebih cepat menguap sehingga destilasi berlangsung lebih cepat. Hasil sokhletasi didestilasi untuk memisahkan pelarut dari ekstrak, sehingga hasil ekstrak dapat dihitung rendemennya. Pada hasil akhir sokhletasi-evaporasi didapat hasil rendemen sebanyak 14,92 % berat awal. Sisa kandungan yang tidak larut pada metanol adalah serat dan pati (Hasan dkk., 2012).

Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji kandungan fitokimianya secara kualitatif. Kandungan fitokimia yang diuji adalah flavonoid, alkaloid, triterpenoid-steroid, saponin, dan tanin. Pengujian juga dilakukan pada minyak jahe yang akan digunakan sebagai kontrol positif. Hasil yang diperoleh pada uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Rosco.) dan Minyak Jahe

Uji	Ekstrak Jahe	Minyak Jahe
Uji Flavonoid	+	+
Uji Alkaloid	Wagner (+) Mayer (+) Dragendorff (+)	Wagner (-) Mayer (-) Dragendorff (-)
Uji Triterpenoid-steroid	Triterpenoid (+)	Triterpenoid (+)
Uji Saponin	+	-
Uji Tanin	+	-

Keterangan :

- (+) : hasil positif
- (-) : hasil negatif

Pengujian dilakukan pada ekstrak jahe dan minyak jahe, minyak jahe diuji karena akan digunakan sebagai kontrol positif. Menurut Bhargava dkk (2012), hasil positif pada uji flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna kuning, oranye, atau merah. Pada alkaloid adalah endapan putih/bening pada uji Meyer, endapan coklat pada Wagner, dan endapan merah pada uji Dragendorff. Pada uji triterpenoid-steroid

dinyatakan positif triterpenoid bila ada warna merah, sedangkan positif steroid bila ada warna hijau. Pada uji saponin dinyatakan positif bila ada buih setinggi ± 1 cm setelah dikocok, sedangkan pada uji tanin dinyatakan positif bila terdapat warna biru/kehitaman setelah ditambahkan reagen.

Pada ekstrak jahe didapati hasil positif pada semua uji. Pada uji flavonoid menunjukkan warna oranye, uji Wagner ada endapan coklat, uji, Mayer ada endapan bening, uji Dragendorf ada endapan merah, uji triterpenoid ada warna merah, uji saponin ada gelembung 1 cm, dan uji tanin ada warna biru kehitaman. Menurut Bhargava dkk (2012), ekstrak metanol jahe bila diuji fitokimia akan menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan positif triterpenoid.

Pada minyak jahe, didapati hasil positif hanya pada uji flavonoid dan triterpenoid. Menurut Bode dan Dong (2011), minyak jahe mengandung oleoresin, yaitu minyak volatil dari rimpang jahe. Pada oleoresin, terdapat campuran beberapa senyawa flavonoid seperti gingerol, shogaol, dan zingerone, serta beberapa senyawa triterpenoid. Oleh karena itu, minyak jahe tidak menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid, tanin, dan saponin.

Pre-treatment dan Uji Viabilitas

Biakan yang terbukti murni *S. cerevisiae* kemudian di *pre-treatment* menggunakan ekstrak jahe pada beberapa konsentrasi serta dengan minyak jahe 10 % sebagai kontrol positif. *Pre-treatment* dilakukan dengan memaparkan ekstrak pada biakan *S. cerevisiae* dengan perbandingan 10:1 selama 30 menit dengan di-*vortex* secara konstan.

Menurut Hemmati dkk (2012), *pre-treatment* dilakukan dengan perbandingan reagen : biakan sebesar 10:1 agar reagen dapat bereaksi dengan biakan. Campuran di-*vortex* sesekali selama 30 menit dilakukan agar campuran tetap homogen saat direaksikan dengan biakan selama 30 menit. Setelah 30 menit, campuran pada tabung falkon kemudian di-sentrifus pada kecepatan ± 3000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan biakan dengan ekstrak. Biakan yang sudah dipisahkan kemudian

dilarutkan dalam 10 ml aquades steril lalu diinokulasikan pada medium *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) selama 48 jam.

Hasil *S. cerevisiae* yang sudah di *pre-treatment* kemudian diuji viabilitasnya. Uji viabilitas dilakukan dengan *plating* hasil *pre-treatment* ke medium PDA kemudian dihitung koloni yang tumbuh. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Viabilitas

Hasil <i>Treatment</i>	Jumlah Koloni Terhitung	Jumlah Koloni (CFU)
Kontrol Negatif	TNTC	-
Ekstrak Jahe 5%	TNTC	-
Ekstrak Jahe 10%	TNTC	-
Ekstrak Jahe 15%	TNTC	-
Kontrol Positif	261	261 CFU/ml

Keterangan:

TNTC : *too numerous to count* (>300 koloni)

(-) : hasil tidak dapat dihitung karena jumlah koloni terlalu tinggi (>300 koloni)

Uji viabilitas dilakukan untuk mengetahui pengaruh *pre-treatment* terhadap kematian biakan *S. cerevisiae*. Menurut Hemmati dkk (2012), uji viabilitas dapat dilakukan untuk melihat tingkat kematian atau mortalitas biakan akibat *pre-treatment*. Bila jumlah koloni pada perlakuan kontrol negatif diketahui sebanyak >300 dan dianggap sebagai populasi mula-mula, maka pada perlakuan jahe 5, 10, dan 15 % dapat diketahui bahwa mortalitasnya sebesar 0 %. Namun, pada kontrol positif dapat diketahui bahwa mortalitasnya sebesar 13 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan *pre-treatment* tidak menyebabkan kematian pada sel, kecuali pada perlakuan dengan minyak jahe atau kontrol positif.

Pada penelitian Hemmati dkk (2012), *pre-treatment* menggunakan etilmetanosulfonat (EMS) sebesar 8 % selama 30 menit menunjukkan tingkat kematian atau mortalitas sebesar 70 %. Pada penelitian tersebut, *pre-treatment* dilakukan pada dosis mematikan (*Lethal Dosage* atau LD) sehingga menghasilkan mortalitas yang tinggi. Pada penelitian terdahulu, yaitu penelitian oleh Hashimoto dkk (2005), *pre-treatment* menggunakan EMS sebesar 3 % selama 240 menit

menghasilkan mortalitas sebesar 90%. Pada penelitian yang dilakukan, *pre-treatment* tidak dilakukan dengan ekstrak jahe pada dosis mematikan, sehingga pada ekstrak jahe tidak terdapat adanya kematian. Keberhasilan *pre-treatment* terhadap perubahan sifat pada *S. cerevisiae* dapat diketahui dengan perbedaan hasil produksi alkohol yang akan dilakukan pada proses fermentasi.

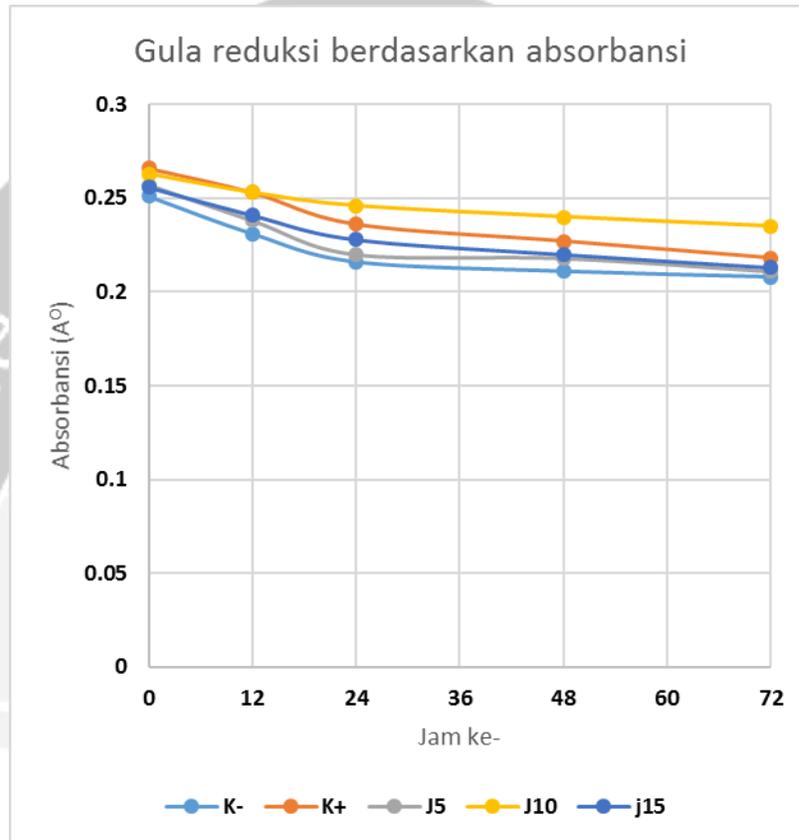
Fermentasi

Biakan *S. cerevisiae* yang sudah di *pre-treatment* kemudian disubkultur pada medium *potato dextrose broth* selama 24 jam untuk digunakan pada fermentasi. *S. cerevisiae* diinkubasi selama 24 jam karena selama 24 jam akan terjadi pertumbuhan sel secara pesat. Menurut Buckee dan Hargitt (1978), pada 24 jam pertama inkubasi kultur sedang berada pada fase eksponensial. Fase eksponensial merupakan fase pertumbuhan sel dimana terjadi pembelahan sel secara cepat akibat kandungan nutrisi yang tinggi pada media tumbuh. *S. cerevisiae* berumur 24 jam tersebut dapat digunakan sebagai starter fermentasi.

Fermentasi dilakukan untuk melihat perbedaan produksi alkohol oleh *S. cerevisiae* dari tiap perlakuan. Selama fermentasi, parameter yang diukur adalah konsentrasi gula reduksi dan kadar alkohol. Fermentasi dilakukan secara *batch* selama 72 jam, yaitu fermentasi sekali unduh dan dihentikan pada jam ke-72.

Pada tahap fermentasi, dilakukan pengamatan terhadap kadar gula reduksi pada medium fermentasi. Kadar gula dapat diukur dengan menghitung kadar gula reduksi. Gula reduksi merupakan gula atau karbohidrat yang memiliki atom bebas, sifat tersebut menyebabkan gula bereaksi dengan senyawa lain dan menyebabkan reduksi, sehingga disebut gula reduksi atau gula pereduksi. Kandungan gula pada medium berbanding lurus dengan kandungan gula reduksi, sifat pereduksi dapat mereduksi reagen Nelson A & B dan dengan penambahan reagen *Arsenomolybdat* dapat menghasilkan warna biru. Intensitas warna biru dapat diukur pada spektrofotometer dan akan didapatkan hasil absorbansi yang berbanding lurus dengan

konsentrasi gula reduksi (Marks dkk., 1996). Hasil pengukuran gula reduksi pada jam ke-0, 12, 24, 48, dan 72 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Hasil Pengukuran Kadar Gula Reduksi

Keterangan : Hasil rata-rata pengukuran gula reduksi pada fermentasi jam ke-0, 12, 24, 48, dan 72 dari 5 pengulangan pada perlakuan kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), jahe 5 (J5), 10 (J10), dan 15% (J15).

Gula reduksi diukur untuk mengetahui kadar gula pada medium fermentasi pada waktu tertentu. Kadar gula reduksi diukur untuk mengetahui pola konsumsi gula oleh *S. cerevisiae* pada medium fermentasi. Selain itu, kadar gula juga dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kadar gula dengan kadar etanol, yaitu semakin tinggi gula yang digunakan (berkurang di medium) maka semakin tinggi kadar etanol yang dihasilkan (Buckee dan Hargitt, 1978).

Menurut Buckee dan Hargitt (1978), kadar gula reduksi dapat diwakili dengan absorbansi suatu bahan. Semakin tinggi nilai absorbansi sampel, maka semakin tinggi pula konsentrasi gula reduksi pada sampel tersebut. Pada kurva di atas, dapat dilihat bahwa gula reduksi pada tiap perlakuan semakin turun, dari jam ke-0 fermentasi sampai jam ke-72. Pada awal fermentasi (jam ke-0), kadar gula reduksi pada tiap medium di tiap perlakuan rata-rata terbaca pada $0,258 A^\circ$ di spektrofotometer dan turun pada jam ke-24 menjadi sebesar $0,234 A^\circ$ pada rata-rata, dari jam ke-24 sampai ke-72 penurunan gula reduksi tidak sebanyak pada jam ke-0 sampai 24. Hal ini sesuai teori Buckee dan Hargitt (1978), yaitu gula reduksi berkurang banyak pada 24 jam pertama, hal ini menunjukkan bahwa konsumsi gula tinggi pada 24 jam pertama, sedangkan kadar gula pada jam ke-24 sampai 72 tidak berkurang sebanyak 24 jam pertama.

Berdasarkan kurva pada Gambar 12, dapat dilihat bahwa pola konsumsi gula pada tiap perlakuan sama, yaitu konsumsi gula tinggi pada jam ke-12 sampai 24 (kurva turun) dan pada jam ke-24 sampai 72 konstan (kurva datar). Bila diperhatikan, dapat diketahui bahwa konsumsi gula pada perlakuan kontrol negatif sedikit lebih tinggi daripada perlakuan lain. Hal ini ditunjukkan oleh posisi kurva yang lebih rendah daripada kurva perlakuan kontrol positif, jahe 5, 10, dan 15%. Menurut Buckee dan Hargitt (1978), hal ini dapat berbanding lurus dengan produksi alkohol, yaitu semakin banyak konsumsi gula maka produksi alkoholnya juga semakin tinggi.

Pada penelitian Buckee dan Hargitt (1978), dilakukan pengukuran kadar gula atau karbohidrat pada fermentasi bir. Pada penelitian tersebut juga dilakukan pengukuran gula menggunakan metode Nelson-Somogyi. Hasil yang diperoleh adalah kurva kadar gula reduksi semakin turun seiring produksi alkohol pada bir. Kurva yang menurun tersebut berarti gula reduksi pada medium dikonsumsi untuk pertumbuhan sel dan produksi alkohol

Fermentasi dilakukan selama 72 jam, kemudian diukur kadar etanol pada tiap perlakuan. Pengukuran kadar etanol dilakukan menggunakan *Gas Chromatography*

Shimadzu model GC-2010 Plus series. Hasil kadar alkohol yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengukuran alkohol

Perlakuan	Kadar Alkohol(%)
Kontrol (-)	5,134 %
Kontrol (+)	4,52 %
Jahe 5%	4,682 %
Jahe 10%	4,396 %
Jahe 15%	4,528 %

Hasil pengukuran kadar etanol kemudian dianalisis menggunakan ANAVA dengan tingkat kepercayaan 95 %, kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Hasil ANAVA yang diperoleh dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis ANAVA menunjukkan bahwa terdapat nilai signifikan pada tiap perlakuan sebesar 0,770. Menurut Yulianti (2014), nilai signifikan $>0,05$ menunjukkan bahwa tidak terdapat beda nyata pada tiap perlakuan. Tidak adanya beda nyata menyebabkan uji lanjutan yaitu DMRT tidak dilakukan. Hasil yang tidak beda nyata menyebabkan hipotesis akan adanya hasil beda nyata ditolak.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa perlakuan *pre-treatment* pada *S. cerevisiae* menggunakan ekstrak jahe tidak menunjukkan hasil beda nyata dengan kontrol negatif. Menurut Lim (2016), kandungan gingerol pada jahe dapat mengakibatkan terjadinya perubahan susunan genetik bila paparan terjadi dalam konsentrasi tinggi. 6-gingerol pada konsentrasi 80 μM atau 23,5 mg/l dapat menyebabkan kerusakan genetik atau mutasi pada *Salmonella typhimurium*. Namun, sifat mutagenik gingerol pada sel dapat dihambat oleh kandungan fenol lain pada jahe, yaitu zingerone. Nagabhushan dkk (1987) menyampaikan bahwa kandungan zingerone pada jahe bersifat antimutagenik.. Oleh karena itu, hal tersebut kemungkinan menjadi penyebab tidak diperolehnya hasil beda nyata pada tiap perlakuan, yang berarti perlakuan yang diberikan tidak memberikan dampak terhadap hasil produksi alkohol.

Pada penelitian Hemmati dkk (2012), dapat diperoleh galur *S. cerevisiae* mutan oleh mutagenesis menggunakan etil metanosulfonat (EMS). Mutan yang dihasilkan dapat memproduksi alkohol 3-5% lebih banyak daripada *S. cerevisiae* kontrol. Sedangkan, pada penelitian Singh dan Sharma dkk (2015), diperoleh beberapa galur *S. cerevisiae* mutan yang produksi alkoholnya beragam, yaitu pada galur liar dihasilkan alkohol sebanyak 4,3 g/l, pada mutan oleh mutagen 5-bromouracil 3,7 g/l, pada acriflavin 1,25 g/l, dithiotritol 11,4 g/l, allylthiourea 0,9 g/l, dan acridine 0,8 g/l. Pada penelitian tersebut hanya mutagen dithiotritol yang menghasilkan mutan dengan produksi alkohol lebih tinggi daripada galur liar, sehingga Singh dan Sharma dkk (2015) menyimpulkan bahwa dapat diperoleh mutasi yang menguntungkan dan juga merugikan.

Pada penelitian yang sudah dilakukan, didapati hasil tidak beda nyata pada tiap perlakuan *pre-treatment*. Hal ini menunjukkan bahwa *pre-treatment* menggunakan ekstrak jahe tidak menghasilkan perbedaan produksi alkohol seperti pada penelitian Hemmati dkk (2012) dan Singh dan Sharma (2015). Hasil yang tidak beda nyata kemungkinan disebabkan oleh kandungan antimutagenik pada jahe sehingga *pre-treatment* menggunakan ekstrak jahe tidak menimbulkan mutasi, atau perlakuan menggunakan ekstrak jahe tidak menimbulkan efek pada kadar 5, 10, dan 15%.

IV. SIMPULAN DAN SARAN

.Berdasarkan hasil penelitian produksi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan *pre-treatment* menggunakan ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Rosco.) dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil yang diperoleh dari *S. cerevisiae* perlakuan kontrol negatif, kontrol positif, jahe 5%, jahe 10%, dan jahe 15% berturut-turut adalah 5,134; 4,52; 4,682; 4,396; dan 4,528 %. Hasil alkohol oleh *S. cerevisiae* perlakuan kontrol negative lebih besar daripada perlakuan yang lain, meskipun pada ANAVA tidak diperoleh hasil beda nyata

2. Pada penelitian tidak diperoleh *S. cerevisiae* yang dapat memproduksi alkohol lebih tinggi daripada *S. cerevisiae* yang tidak diberi perlakuan (kontrol negatif).

Berdasarkan hasil penelitian produksi alkohol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan *pre-treatment* menggunakan ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Rosco.) dapat diajukan saran untuk penelitian selanjutnya, yaitu:

1. Ekstrak jahe diukur kadar gingerolnya secara kuantitatif
2. Sebaiknya dilakukan pengamatan pola pertumbuhan *S. cerevisiae* selama 24-48 jam.
3. Pada awal fermentasi, sebaiknya dilakukan penyetaraan jumlah sel pada tiap perlakuan.
4. Perlakuan *pre-treatment* dapat dilakukan pada kadar ekstrak jahe yang lebih tinggi atau kadar jahe dapat ditentukan berdasarkan molaritas gingerol pada ekstrak
5. Biakan hasil *pre-treatment* sebaiknya dicuci setelah dipisahkan dari ekstrak, biakan juga dapat dilarutkan agar tidak tumbuh *spreader* pada uji viabilitas di medium PDA.
6. Keberhasilan mutagenesis pada *pre-treatment* juga dapat diuji dengan menumbuhkan biakan hasil *pre-treatment* pada medium selektif (dapat berisi ekstrak jahe).

DAFTAR PUSTAKA

- Bode, A. M., dan Dong, Z. 2011. The Amazing and Mighty Ginger. Pada: *Herbal Medicine : Biomolecular and Clinical Aspects*, 2nd Edition. CRC Press. Dapat diakses di: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92775/>
- Buckee, G. K., dan Hargitt, R. 1978. Measurement of carbohydrates in wort and beer, a review. *Journal of Institution of Brewing Research*. 84(1): 13-21.
- Bhargava, S., Dhabhai, K., Batra, A., Sharma, A., dan Malhotra, B. 2012. *Zingiber officinale* : Chemical and phytochemical screening and evaluation of its

- antimicrobial activities. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 4(1): 360-364.
- Hasan, H. A., Raauf, A. M. R., Razik, B. M. A., dan Hassan, B. A. R. 2012. Chemical composition and antimicrobial activity of crude extracts isolated from *Zingiber officinale* by different solvents. *Pharmaceutica Analytica Acta* 3(9): 1-5.
- Hashimoto, S., Ogura, M., Aritomi, K., Hoshida, H., Nishizawa, Y., dan Akada, R. 2005. Isolation of Auxotrophic Mutants of Diploid Industrial Yeast Strains after UV Mutagenesis. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 312-319.
- Hemmati, N., Lightfoot, D. A., dan Fakhoury, A. 2012. A mutated yeast strain with enhanced ethanol production efficiency and stress tolerance. *Atlas Journal of Biology* 2(2): 100-115.
- Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral. 2012. *Statistik Minyak Bumi 2012*. http://www.esdm.go.id/statistik/datasektordesdm/doc_download/1256-statistik-minyak-bumi-2012.html. Diakses tanggal 20 Agustus 2016.
- Lim, T. K. 2016. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 12, Modified Stems, Roots, Bulbs*. Springer, Heidelberg. Halaman 507-508.
- Marks, A.D., Marks, D.B., dan Smith, C.D. 1996. *Biokimia Kedokteran Dasar : Sebuah Pendekatan Klinis*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Halaman 63.
- Nagabhushan, M., Amonkar, A. J., dan Bhide, S. V. 1987. Mutagenicity of gingerol and shogaol and antimutagenicity of zingerone in Salmonella/microsome assay. *Cancer Letter*, 36(2):221-233.
- Singh, J., dan Sharma, R. 2015. Growth Kinetic and Modeling of Ethanol Production by Wilds and Mutant *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 170. *European Journal of Experimental Biology*, 5(4): 1-6.
- Yulianti, L. I. M. 2014. *Biostatika*. Graha Ilmu, Yogyakarta. Halaman 32-39.

