

PAIR/P.258/1988

PENGARUH IRADIASI PADA DAYA FERMENTASI
ALKOHOL *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Suharni Sadi

K.P. 580

PENGARUH IRADIASI PADA DAYA FERMENTASI ALKOHOL *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* *

Suharni Sadi **

ABSTRAK

PENGARUH IRADIASI PADA DAYA FERMENTASI ALKOHOL *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. Suspensi *S. cerevisiae* dengan kepekatan $1,5 \times 10^8$ sel/ml diiradiasi dengan sinar gamma yang berasal dari ^{60}Co dalam suasana aerob dengan dosis 0; 0,30; 0,60; 0,90; dan 1,20 kGy pada laju dosis 1,63 kGy/jam lalu diinokulasikan pada media ubi kayu yang telah disakharifikasi. Iradiasi dilakukan dengan dua cara, yaitu secara dosis tunggal dan dosis terbagi dua dengan interval waktu tertentu yakni 15, 30, dan 45 menit. Fermentasi berlangsung pada suhu 30°C selama 40 jam. Dari hasil penelitian ini terbukti bahwa pada dosis 0,60 kGy terjadi kecenderungan kenaikan produksi alkohol walaupun secara statistik tidak jauh berbeda dengan kontrol. Pada dosis 1,20 kGy, daya fermentasi *S. cerevisiae* telah menurun secara nyata bila dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan iradiasi yang diberikan secara dosis tunggal dan dosis terbagi dua dengan interval waktu iradiasi 15-45 menit tidak berpengaruh pada jumlah alkohol yang diproduksi oleh *S. cerevisiae*. Interval waktu iradiasi 45 menit pada dosis 0,60 kGy bila dibandingkan dengan dosis 1,20 kGy mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap produksi alkohol yang dihasilkan.

ABSTRACT

THE IRRADIATION EFFECT ON THE ALCOHOL FERMENTATION ABILITY OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*. *S. cerevisiae* suspension of $1,5 \times 10^8$ cells/ml was exposed to single and fractionated doses of gamma irradiation i.e. 0; 0,30; 0,60; 0,90; and 1,20 kGy in aerobic condition at dose rate of 1,63 kGy/hour. Fractionated doses were given with interval time of 15, 30 and 45 minutes. The fermentation was held at 30°C for 40 hours. It seemed that an increase of alcohol production was obtained when cells were irradiated at 0,60 kGy, although the result had no significant difference statistically with control. At the doses of 1,20 kGy the alcohol fermentation ability of *S. cerevisiae* decreased drastically when compared with control. Irradiation using single dose or fractionated doses with interval time of 15 - 45 minutes did not influence the alcohol production.

* Dibawakan pada Seminar Biologi di Purwokerto, Oktober 1987.
** Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jakarta.

When we compared the interval time of 45 minutes at 0.60 kGy with the dose of 1.20 kGy, it appeared that the yield of alcohol production was different.

PENDAHULUAN

S. cerevisiae telah lama dikenal dapat memfermentasi bahan yang mengandung pati (karbohidrat). Oleh karena itu, organisme tersebut dinamakan *Saccharomyces* yang berasal dari kata *saccharo* yang berarti gula dan *mycetes* yang berarti fungsi.

Fermentasi banyak dimanfaatkan dalam kehidupan kita yaitu untuk pembuatan tape, tempe, brem, bir, dan sebagainya yang dikenal dengan nama bioteknologi. Sejalan dengan berkembangnya industri mikrobiologi maka pemakaian bioteknologi lebih diperluas.

Akhir-akhir ini banyak negara mengalami kesukaran dalam mendapatkan bahan bakar minyak yang berasal dari bumi. Dalam usaha menggantikan bahan bakar tersebut berbagai cara telah dilakukan, antara lain dengan menggunakan alkohol (etanol). Etanol dapat dibuat dari bermacam-macam bahan, misalnya limbah pertanian (1), dan limbah industri (2). Seperti diketahui bahan nabati yang mengandung pati juga merupakan sumber yang penting bagi pembuatan etanol (3). Salah satu diantaranya ialah ubi kayu yang merupakan pilihan para ahli untuk fermentasi alkohol. Hal ini disebabkan pembudidayaannya mudah, banyak terdapat di daerah tropis termasuk Indonesia, dan harganya pun relatif murah (4). Pada penelitian ini digunakan ubi kayu sebagai sumber karbohidrat. Untuk mendapatkan hasil fermentasi yang lebih baik, telah banyak dilakukan penelitian terhadap *S. cerevisiae* (5-7).

Iradiasi telah banyak digunakan untuk berbagai keperluan dan memberikan hasil yang nyata, antara lain terjadinya mutasi pada bakteri

(8,9), biakan jaringan mamalia (10), maupun pada padi (11).

Perlakuan iradiasi dengan dosis tunggal dan dosis terbagai dua dengan interval waktu iradiasi tertentu, telah dilakukan oleh ELKIND dan SUTTON pada tahun 1959 seperti yang dikutip oleh OKADA (12) terhadap sel mamalia.

Berdasarkan hal tersebut maka dicoba proses fermentasi dengan menggunakan *S. cerevisiae* yang telah mendapatkan perlakuan iradiasi baik secara dosis tunggal maupun dengan dosis terbagi dua dengan interval waktu iradiasi 15, 30, dan 45 menit.

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui bagaimana pengaruh iradiasi dengan dosis tunggal dan dosis terbagi dua terhadap daya fermentasi alkohol *S. cerevisiae* pada media ubi kayu.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Inokulum. *S. cerevisiae* untuk penelitian ini didapat dari Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Indonesia. *S. cerevisiae* di biakkan selama 24 jam pada suhu 30°C pada agar miring sesuai dengan LODDER (13). Suspensi pertama dibuat dalam media cair Sabouraud Glucose Broth (SGB) buatan Merck. Pengeraman dilakukan selama 16 jam pada suhu kamar sambil dikocok. Setelah itu, 4 ml biakan tersebut dipipetkan ke dalam 10 ml media cair SGB, lalu dieram kembali hingga mencapai tingkat pertumbuhan pada fase logaritma. Kemudian sel dipanen dengan cara pemusingan, lalu dicuci dengan larutan penyangga fosfat pH 7. Suspensi *S. cerevisiae* yang mengandung kira-kira $1,5 \times 10^8$ sel/ml siap untuk diiradiasi.

Persiapan Media. Media yang dipakai ialah ubi kayu (*Manihot utilissima* Pohl) berwarna kuning yang dibeli dari petani di sekitar

Jumat, Jakarta. Ubi kayu segar dikupas, lalu diparut. Dari parutan ubi kayu dibuat suspensi 35% (b/v) dalam air suling. pH media dibuat menjadi 4,5 dengan menambahkan asam sulfat 4N. Media dipanaskan sambil diaduk hingga homogen dan disterilkan. Media ini kemudian disakharifikasi dengan menambahkan enzim AMG yang diperoleh dari PT SUPRA INCOMER sebanyak 0,3% (v/v), dieram pada 60°C selama 24-48 jam, lalu diinokulasi dengan *S. cerevisiae* yang telah diiradiasi. Setelah itu dilakukan proses fermentasi.

Iradiasi Biakan. Suspensi *S. cerevisiae* diiradiasi dengan sinar gamma yang berasal dari ⁶⁰Co. Iradiasi dilakukan dalam kondisi aerob, yaitu dengan mengalirkan udara luar melalui pipa kapiler (diameter 2 mm) ke dalam suspensi. Dosis yang digunakan ialah 0; 0,30; 0,60; 0,90; dan 1,20 kGy dengan laju dosis 1,63 kGy/jam. Suspensi *S. cerevisiae* disimpan dalam kondisi dingin (0°C) sebelum, pada waktu dan setelah iradiasi. Cara pelaksanaan iradiasi dengan dosis terbagi dua ialah sebagai berikut : untuk suspensi yang akan diiradiasi dengan dosis 0,60 kGy, mula-mula suspensi diiradiasi dengan dosis 0,30 kGy, kemudian sesudah interval waktu tertentu (15, 30 dan 45 menit), suspensi tersebut diiradiasi kembali dengan dosis 0,30 kGy. Jadi total dosis iradiasi yang didapatkan ialah 0,60 kGy. Untuk dosis tunggal, iradiasi diberikan sekaligus tanpa interval waktu.

Proses Fermentasi. Suspensi *S. cerevisiae* yang telah mendapat perlakuan iradiasi, diinokulasi ke dalam media cair ubi kayu yang telah mengalami sakharifikasi sebanyak 0,6%. Proses fermentasi berlangsung selama 40 jam pada suhu 30°C sambil digoyang (100 goyangan/menit).

Penentuan Produksi Alkohol. Alkohol didapat dengan cara penyulingan.

lingan pada suhu 78°C . Persentase alkohol ditentukan menurut metode PEARSON yang telah dimodifikasi (14,15), yaitu dengan membandingkan berat larutan hasil destilasi yang diperoleh dengan berat air pada volume yang sama. Setelah berat jenis destilat diketahui, maka persentase alkohol (v/v) didapat, yaitu berdasarkan daftar (16). Pada perhitungan selanjutnya, hasil tersebut dikonfigurasi menjadi produksi alkohol yang didapat dari 100 ml substrat cair ubi kayu.

Rancangan Percobaan. Percobaan dilakukan secara faktorial dengan rancangan kelompok, dengan perlakuan dosis iradiasi 5 taraf, dan interval waktu iradiasi 4 taraf. Percobaan dilakukan dengan 3 kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Tabel 1 terlihat sidik ragam kadar alkohol (ml) yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* yang diiradiasi, dalam 100 ml substrat. Terlihat bahwa dosis iradiasi berpengaruh nyata tetapi interval waktu iradiasi dan interaksinya tidak berpengaruh nyata pada daya fermentasi *S. cerevisiae*.

Pada Tabel 2 terlihat hasil analisa statistik beda harga rata-rata pengaruh dosis iradiasi pada kadar alkohol (ml) yang dihasilkan dalam 100 ml substrat. Ternyata antara kontrol dan dosis 1,20 kGy terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 1,20 kGy, sel *S. cerevisiae* telah mengalami kerusakan (17, 18). Menurut WEBER dan KIEFER (19), iradiasi dapat merusak sel hidup sehingga sel kehilangan kemampuan untuk membentuk koloni. Hal ini disebabkan oleh luka kritis pada DNA yang mengakibatkan terhentinya pembentukan RNA polimerase, yang merupakan efek letal bagi sel

tersebut (19).

Berdasarkan penelitian OKADA (12), iradiasi dapat menyebabkan terjadinya kerusakan membran, misalnya membran inti, membran mitokondria, membran liposom atau membran sel. Kerusakan membran tersebut dapat mengakibatkan kematian sel bila terjadi perpindahan molekul yang tidak dikehendaki dari bagian sel yang satu ke bagian yang lain, sehingga terjadi ketidakseimbangan metabolik. Antara dosis 0,60 kGy dan 1,20 kGy terlihat ada perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), sedangkan antara dosis 0,60 kGy dan kontrol tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 0,60 kGy cenderung menaikkan produksi alkohol. Pada penelitian terdahulu (20) (lihat Tabel 4) ternyata pada dosis 0,60 kGy terjadi penurunan jumlah koloni. Bila dilihat dari produksi alkohol yang tidak berbeda nyata dengan kontrol, maka diduga enzim amilase dalam sel *S. cerevisiae* hasil iradiasi 0,60 kGy menjadi lebih aktif sehingga proses fermentasi makin giat dan produksi alkohol makin banyak (21).

Pada Tabel 3 terlihat kadar alkohol (% volume) hasil fermentasi ubi kayu oleh *S. cerevisiae* yang telah diiradiasi dengan berbagai dosis dan interval waktu iradiasi. Ternyata kadar alkohol yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* yang telah diiradiasi secara dosis tunggal dan terbagi dua dengan interval waktu iradiasi 15-45 menit tidak berbeda nyata. Hal ini mungkin disebabkan sel masih berada pada fase atau stadium pertumbuhan yang sama, sehingga kecepatan proses fermentasinya juga berbeda (12).

Jika diperhatikan interval waktu iradiasi 45 menit pada dosis 0,60 kGy dan 1,20 kGy maka terlihat perbedaan yang sangat nyata. Pada dosis 0,60 kGy, dengan interval waktu 45 menit, kerusakan sel

yang terjadi pada rantai tunggal dan ganda DNA mungkin dapat diperbaiki kembali sehingga sel bertahan untuk hidup (22). Menurut ELKIND-SUTTON yang dikutip oleh OKADA (12), mungkin dengan interval waktu iradiasi 45 menit kerusakan sel yang terjadi pada iradiasi pertama telah dapat diperbaiki secara sempurna pada iradiasi kedua, sehingga daya tahan hidup sel tetap tinggi. Sebaliknya pada dosis 1,20 kGy dengan interval waktu iradiasi 45 menit, kemungkinan setelah iradiasi pertama populasi sel banyak yang mengalami kerusakan, dan sebelum sempat memperbaiki diri telah mendapat iradiasi lagi (iradiasi kedua). Akibatnya kerusakan yang terjadi tidak dapat diperbaiki kembali.

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan ini dapat disimpulkan bahwa perlakuan iradiasi dengan dosis 0,60 kGy cenderung meningkatkan produksi alkohol meskipun secara statistik tidak memperlihatkan perbedaan nyata dengan kontrol. Pada dosis 1,20 kGy, daya fermentasi *S. cerevisiae* telah menurun secara nyata bila dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan iradiasi yang diberikan secara dosis tunggal dan dosis terbagi dua dengan interval waktu iradiasi 15 - 45 menit tidak berpengaruh pada jumlah alkohol yang diproduksi oleh *S. cerevisiae*. Interval waktu iradiasi 45 menit pada dosis 0,60 kGy bila dibandingkan dengan dosis 1,20 kGy mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap produksi alkohol yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Jurusan Biologi FMIPA,

Universitas Indonesia, Jakarta yang telah memberikan khamir *S. cerevisiae*, P.T. Supra Incomer di Jakarta yang telah memberikan enzim AMG, dan Sdr. Djuzwardi yang telah membantu penelitian ini hingga berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

1. KAETSU, I., KIIMAKIURA, M., FUJIMURA, T., YOSHII, F., KOJIMA, T., and TAMADA, M., Utilization of radiation technique on the saccharification and fermentation of biomass, *Rad. Phys. Chem.* 18 3-4 (1981) 827.
2. TERREL, S.L., BERNARD, A., and BALLEY, R.B., Ethanol from whey: continuous fermentation with a catabolite repression resistant *Saccharomyces cerevisiae* mutant, *App. and Environ. Microbiol.* Sept. 48 3 (1984) 577.
3. PRESCOTT, S.C., and DUNN, C.G., *Industrial Microbiology*, 3rd ed. Mc. Graw Hill New York (1959).
4. CIPTADI, W., "Umbi ketela pohon sebagai bahan industri", Departemen Teknologi Hasil Pertanian Bogor (1977).
5. HEARD, G.M., and FLEET, G.H., Growth of naturally yeast flora during the fermentation of inoculated wines, *App. and Environ. Microbiol.* Sept. 50 3 (1985) 727.
6. WALKER, H.M.G., RODRIGUEZ, R.J., and PARKS, L.W., Recovery of *Saccharomyces cerevisiae* from ethanol-induced growth inhibition, *App. and Environ. Microbiol.* 50 3 (1985) 685.
7. CASEY, G.P., MAGNUS, C.A., and INGLEDEW, W.M., High gravity brewing: Effect of mutation on yeast composition, fermentative ability, and alcohol production, *App. and Environ. Microbiol.* Sept. 48 3 (1984) 639.
8. SUHADI, F., KITAYAMA, S., OKAZAWA, Y., and MATSUYAMA, A., Isolation and some radiobiological properties of mutants of *Micrococcus radiodurans* sensitive to ionizing radiations, *Radiat. Res.* 49 (1972) 197.
9. DZIDIC, S., SMIC, S.E., and TRGOVCEVIC, Z., The relationship between survival and mutagenesis in *Escherichia coli* after fractionated ultraviolet irradiation, *Mutation Res.* 173 (1986) 89.
10. BROWN, R., STRETCH, A., and THACKER, J., The nature of mutants induced by ionizing radiation in culture hamster cells, *Mutation Res.* 160 (1986) 111.

11. ISMACHIN, M., and MUGIONO, High protein in rice, Atom Indonesia, Jan. 8 1 (1982) 16.
12. OKADA, S., Radiation Biochemistry (ALTMAN, K.I., GERBER, G.B., OKADA, S eds) Acad. Press N.Y. & London (1970) 287.
13. LODDER, J., The Yeasts, a taxonomy study, 2nd ed. North-Holland Publishing Company-Amsterdam (1970) 287.
14. PEARSON, D., The Chemical Analysis of Foods, 6th ed. Chemical Publication Company New York (1970).
15. EDIYARTI, E., Penentuan kadar alkohol brem Bali, Skripsi Sarjana Muda Gizi, Akademi Gizi Departemen Kesehatan R.I., Jakarta (1979).
16. WINTON, A.L., and WINTON, K.R., The analysis of foods, John Wiley and Sons Inc., Chapman and Hall Ltd., New York, London (1945) 647.
17. ALTMAN, K.I., GERBER, G.B., and OKADA, S., Radiation Biochemistry, 1 Acad. Press, London (1970).
18. TOBIAS, C.A., MORTIMER, R.R., GUNTHER, R.L., and WELCH, G.P., Action of radiation on yeast cell, U.N. Peaceful Uses of Atomic Energy Proc. 2nd Int. Conf. Geneva 22 (1958) 45.
19. WEBER, K., and KIEFER, J., Inhibition of ribosomal RNA synthesis in yeast by ionizing radiation, Int. J. Radiat. Biol. 46 6 (1984) 691.
20. SADI, S., Pengaruh iradiasi yang diberikan secara dosis tunggal dan terbagi pada khamir, dibawakan pada Kongres Nasional Mikrobiologi ke IV di Jakarta, Desember 1985.
21. MYRATH, J., BAHN, M., HAN, H.E., and ALTMAN, H., "Induction of amylase producing mutants in Aspergillus oryzae by different irradiation, Radiation and Radioisotopes for Industrial Micro-organisms", (Proc. Symp. Viena, 1971), IAEA, Vienna (1971) 137.
22. UTSUMI, H., and ELKIND, M.M., "Damage repair in mammalian cells. Comparative processes in ionizing and non ionizing radiation lethality" Radiation Research (OKADA, S., IMAMURA, M., TERASHIMA, T., YAMAGUCHI, H., eds), Proc. 6th Int. Conf. Rad. Res. Tokyo, 13-19 May (1979) 632.

Tabel 1. Sidik ragam kadar alkohol (ml) dalam 100 ml substrat

Sumber	F _{hitung}	F _{tabel}	
		5%	1%
Interval waktu	1,25 tn	2,85	4,34
Dosis iradiasi	4,22 **	2,62	3,86
Interaksi	0,71 tn	2,02	2,69

tn = tidak berbeda nyata pada $P < 0,05$

** = berbeda nyata pada $P < 0,01$

Tabel 2. Beda harga rata-rata pengaruh dosis iradiasi terhadap kadar alkohol (ml) dalam 100 ml substrat

Dosis (kGy)	Harga rata-rata
0	1,72 ab
0,30	1,57 abc
0,60	1,90 a
0,90	1,43 abc
1,20	1,07 c

BNJ 5% = 0,62

a, ..., c Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata.

Tabel 3. Kadar alkohol (% volume) hasil fermentasi ubi kayu oleh *S. cerevisiae* yang telah diiradiasi dengan berbagai dosis dan interval waktu iradiasi

Dosis (kGy)	Interval waktu iradiasi (menit)			
	0	15	30	45
0	1,95 ab	1,52 ab	1,45 ab	1,95 ab
0,30	1,44 ab	1,42 ab	1,43 ab	1,97 ab
0,60	1,79 ab	1,72 ab	1,40 ab	2,68 a
0,90	1,72 ab	1,15 ab	1,59 ab	1,26 ab
1,20	1,15 ab	1,03 ab	1,34 ab	0,75 b

BNJ 0,05 = 1,65

a, b Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata

Tabel 4. Beda harga rata-rata log TPC pengaruh dosis tunggal iradiasi

Dosis (kGy)	Harga rata-rata log TPC
0	6,54 a
0,30	6,09 ab
0,60	5,22 c
0,90	3,80 d
1,20	2,77 e

BNJ 0,05 = 0,49

a, ... e Nilai yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata.