

Optimasi Media Kulit Singkong pada Pertumbuhan *Sacharomyces Cerreviceae*

Mohammad Wachid¹ dan Pratiwi Mutia²

^{1,2} Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang
e-mail : mohammadwachid3@umm.ac.id. No. HP 085234972203

ABSTRAK

Media kulit singkong dapat menjadi media pertumbuhan yeast *Sacharomyces cerreviceae*. Akan tetapi dalam penelitian sebelumnya dihasilkan angka pertumbuhan koloni yang belum maksimal. Oleh karena itu diperlukan adanya optimasi dalam pembuatan media kulit singkong tersebut dengan penambahan nutrisi untuk mencukupi kebutuhan nutrisi dari mikrobia yang ditumbuhkan. Untuk membuktikan kecukupan nutrisi pada media tersebut diperlukan pengujian karakter dari *Sacharomyces cerreviceae*. Penambahan nutrisi dalam CSA mempengaruhi pertumbuhan *Sacharomyces cerreviceae*, penambahan nutrisi N1 (Urea 0,5 g dan KHPO₄ 0,5 g) memberikan hasil terbaik pada pengamatan pertumbuhan jumlah koloni (TPC), Produktivitas CO₂, Produktivitas Ethanol, pH. Pada media CSA dengan penambahan Urea 1 g dan KHPO₄ 1 g dapat menjaga viabilitas *Sacharomyces cerreviceae* sampai minggu ke 4 dengan metode penyimpanan Subculture. Penyimpanan *Sacharomyces cerreviceae* pada media CSA N1 (Urea 0,5 g dan KHPO₄ 0,5 g) memberikan hasil terbaik pada saat diaplikasikan dalam pembuatan roti manis.

Kata kunci : media; *Sacharomyces cerreviceae*; nutrisi; karakter; sub culture

ABSTRACT

Cassava pulp media can be a growth medium for Sacharomyces cerreviceae yeast. However, in the previous research, the maximum colony growth rate was produced. Therefore it is need to optimize the manufacture of cassava pulp media by adding nutrients to meet the nutritional needs of the microbes grown. To prove the adequacy of nutrition in the media, character testing of Sacharomyces cerreviceae is needed. Addition of nutrients in CSA affected the growth of Sacharomyces cerreviceae, addition of N1 nutrients (Urea 0.5 g and KHPO₄ 0.5 g) gave the best results on observing the number of growing colonies (TPC), CO₂ Productivity, Ethanol Productivity, pH. In CSA media with the addition of Urea 1 g and KHPO₄ 1 g can maintain the viability of Sacharomyces cerreviceae until week 4 with the Subculture storage method. Storage of Sacharomyces cerreviceae on CSA N1 media (Urea 0.5 g and KHPO₄ 0.5 g) gave the best results when applied in making sweet bread.

Keywords : medium; *sacharomyces cerreviceae*; nutrition; character; sub culture

1. PENDAHULUAN

Media adalah suatu bahan dengan tambahan nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa limbah produksi makanan diketahui masih banyak mengandung nutrisi yang dapat dimanfaatkan untuk media pertumbuhan mikrobia. Salah satunya adalah kulit singkong.

Kadar karbohidrat yang ada di kulit singkong 38,70% [1]. Kulit singkong tersebut dapat dimanfaatkan untuk media pertumbuhan mikroorganisme karena mengandung komponen protein sebesar 0,70% dan air sebesar 59,40%. Subagio (2013) menjelaskan bahwa singkong di Indonesia banyak

dihasilkan dari daerah Lampung dengan jumlah 8-9 juta ton, Jawa Timur menghasilkan 5 juta ton, Jawa Tengah menghasilkan 4 juta ton, Jawa Barat menghasilkan 3 juta ton, kemudian Sumatera Utara sejumlah 2 juta ton, serta Nusa Tenggara Timur dengan jumlah 1,5 juta ton [2]. Kulit singkong menyusun 25% bagian dari singkong, sehingga pemanfaatan singkong untuk proses pengolahan pangan pasti akan menyisakan kulit singkong sebagai limbah. Hasil penelitian Farmawan (2015) membuktikan bahwa media kulit singkong dapat ditumbuhi mikrobial jenis khamir dan bakteri [3]. Hasil penelitian Diana dan Wachid (2017) menunjukkan kulit singkong dengan gula sukrosa dapat digunakan untuk media pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae*, akan tetapi masih dibutuhkan optimasi agar yeast dapat tumbuh dengan bagus [4]. Media selain digunakan untuk pertumbuhan mikrobial, sering juga digunakan untuk menyimpan mikrobial. Salah satu metode penyimpanan mikrobial adalah metode sub culture agar miring. Metode sub culture ini memang bukan untuk penyimpanan jangka panjang, meskipun begitu metode ini harus dapat memberikan perlindungan terhadap mikrobial terutama kecukupan nutrisi selama penyimpanan. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan optimasi penambahan nutrisi pada media Cassava Sukrosa Agar (CSA) dan dilakukan pengujian terhadap aktivitas yeast. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh optimasi penambahan nutrisi dalam CSA untuk pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae*.

2. METODE PENELITIAN

2.1 ALAT

Alat-alat yang dibutuhkan meliputi, beakerglass, corong, timbangan analitik merk *mettler Toledo*, erlenmeyer, gelas ukur, tabung

reaksi, pipet ukur, cawan petri, pompa hisap, botol kaca, labu ukur, *autoclave* merk *All American Pressure sterilizer model*, kompor, aluminium foil, inkubator merk *MMM Medcenter*, kain saring (kain kasa), laminar, spektrofotometer merk *Genesys 20*, dan beberapa alat bantu lainnya yang diperoleh dari laboratorium ITP Universitas Muhammadiyah Malang.

2.2 Bahan

Pada penelitian ini menggunakan bahan baku kulit singkong yang diperoleh dari pabrik keripik singkong Lumba-Lumba di Jl. Pasar Industri, Talok, Turen, Kabupaten Malang (jenis singkong ketan atau manggu), pupuk Urea dari lab Agroteknologi UMM, gula sukrosa komersial, Ragi komersial soft instan dan, Nutrient Agar, $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , MgSO_4 . Adapun dalam proses analisa menggunakan bahan kimia antara lain: aquades, alkohol 80%, pereaksi anthrone, CaCO_3 , serta bahan-bahan pendukung lainnya yang didapatkan dari Laboratorium ITP, Universitas Muhammadiyah Malang.

2.3 Metode Penelitian.

Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam 2 tahap. Tahap Pertama adalah optimasi dari media kulit singkong (CSA) dengan 3 faktor penambahan nutrisi:

- N1 : Urea 0,5%, KHPO_4 0,05%
 N2 : Urea 1 %, KHPO_4 1 %
 N3 : $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ 1%, KH_2PO_4 1%,
 MgSO_4 0,5%

Dari penelitian tahap pertama ini akan ditumbuhkan ragi komersial *Sacharomyces cereviceae* dan diamati Aktivitas yeast: jumlah pertumbuhan koloni mikrobial (TPC), Produktivitas CO_2 , Produktivitas Ethanol, dan pH.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Analisa Bahan Baku Kulit Singkong

Analisa bahan baku dilakukan untuk mengetahui kandungan kimiawi dari bahan baku sebelum dilakukan proses pengolahan. Analisa bahan baku pada kulit singkong meliputi analisa kadar air, kadar abu, kadar protein, data pengamatan kadar lemak disajikan di tabel 1 berikut :

Tabel 1. Komposisi Kimia Kulit Singkong

Komposisi Kimia	Jumlah	
	Hasil Analisis	Literatur*
Air (%)	23,44	7,9 – 10,32
Abu (%)	4,88	0,2 – 2,3
Protein (%)	1,12	1,5 – 3,7
Lemak (%)	0,9	0,8 – 2,1

Sumber* : Richana N, dkk. (2013)

Berdasarkan data pada tabel 1. menunjukkan perbedaan dengan hasil studi literatur, kecuali kadar lemak. Kadar air hasil analisis yaitu sebesar 23,44%, nilai tersebut lebih besar dibandingkan literatur yaitu sebesar 7,9 – 10,32 %. Perendaman kulit singkong selama 24 jam sebelum digunakan untuk proses pengolahan media CSA juga dapat mempengaruhi hasil analisis yang didapatkan. Diduga saat dilakukannya proses perendaman kulit singkong, air rendaman berdifusi ke dalam bahan menyebabkan peningkatan kadar air sehingga terjadi perbedaan kadar air hasil analisis dan literatur. Sumber bahan baku dapat menyebabkan perbedaan budidaya dan perlakuan pasca panen terutama penyimpanan bahan baku, dimana tanah dan cuaca dapat menyebabkan perbedaan kandungan kimia tidak terkecuali kandungan air di dalam bahan [5]. Perbedaan kandungan air pada bahan disebabkan proses analisa, metode yang digunakan, perbedaan sampel dan suhu, proses penyimpanan, dan kondisi suhu di ruang penyimpanan bahan [6].

Kadar abu pada hasil analisis yaitu sebesar 4,88% yang menunjukkan nilai lebih tinggi dibandingkan literatur yaitu sebesar 0,2-2,3%. Tingginya kadar abu dari hasil

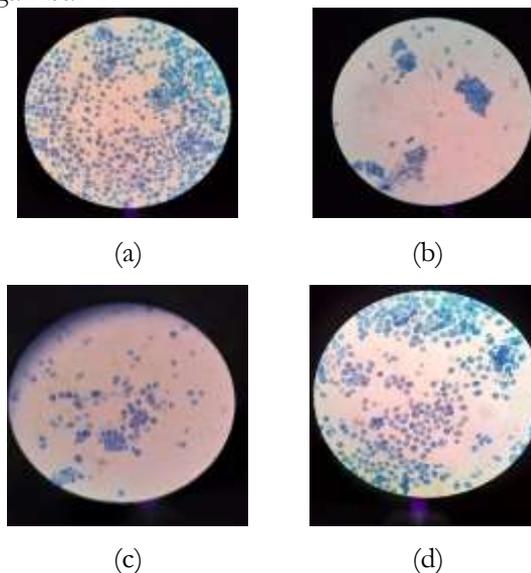
analisis karena varietas maupun jenis singkong yang digunakan berbeda. Kandungan abu di bahan pangan ditentukan dari banyaknya mineral anorganik di bahan tersebut. Selain itu jenis organisme, dan lingkungan hidup yang berbeda juga menyebabkan perbedaan dari kadar abunya. Masing-masing organisme akan menunjukkan perbedaan dalam mengatur dan menyerap logam, hal ini disebabkan karena terdapatnya mineral yang terdapat pada air tersebut [7].

Kadar protein pada analisis menunjukkan nilai yang lebih kecil dari hasil literatur yaitu sebesar 1,127% sedangkan pada literatur yaitu 1,5-3,7%. Hal ini dapat dipengaruhi oleh sumber bahan baku, jenis atau varietas, umur bahan baku sebelum dilakukan analisis.

3.2 Analisa Media *Cassava Sukrose Agar*

3.2.1 Pengamatan Mikroskopis Bentuk *Saccaromyces cerevisiae*

Berikut ini adalah hasil foto mikroskop dari media CSA dan PDA yang ditumbuhi oleh *Saccaromyces cerevisiae* yang dapat diamati pada gambar 1.



Gambar 1. Morfologi *Saccaromyces cerevisiae* yang tumbuh pada media CSA dan PDA pada perbesaran 100 x
Keterangan : (a) Media CSA perlakuan N1, (b) Media CSA perlakuan N2, (c) Media CSA perlakuan N3, (d) Media PDA

Berdasarkan gambar di atas diketahui bahwa media CSA dan PDA yang ditumbuhi *Sacharomyces cereviceae* memiliki bentuk oval atau *coccus* dan terdapat askospora. Selain itu juga dapat dilihat bahwa tidak terdapat mikroorganisme lain yang tumbuh dilihat dengan bentuk koloni yang tumbuh dengan warna yang seragam. Hal ini juga sesuai dengan pendapat Waluyo (2007) *Sacharomyces cereviceae* tergolong eukariot yang secara morfologi hanya membentuk askospora berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulat telur dipengaruhi oleh strainnya [8].

Sacharomyces cereviceae merupakan jenis mikroorganisme dalam pangan yang bergenus khamir. Satu sel khamir akan menghasilkan kuncup yang berukuran awal lebih kecil dan masih menempel pada permukaan sel tetuanya. Setelah tumbuh membesar, sel baru yang berasal dari kuncup akan menghasilkan kuncup baru, sehingga membentuk suatu rangkaian seperti rantai kuncup yang menempel pada permukaan sel khamir tetuanya [9]. Sel berbentuk silindris, dengan ukuran sel 5 -20 mikron, dan biasanya 5 – 10 kali lebih besar dari ukuran bakteri. Khamir ini bersifat non-patogenik dan non-toksik sehingga banyak digunakan dalam berbagai proses fermentasi seperti pembuatan roti dan alkohol [10].

Pengecatan bertujuan untuk membedakan bakteri gram positif dan negatif. Perbedaan antara gram positif dan gram negatif adalah bakteri gram positif akan mengikat cat utama dengan kuat, sehingga mikroba akan berwarna ungu. Pengamatan ini menggunakan bantuan pewarna *methylene blue*. Pemberian pewarna *methylene blue* dilakukan untuk menunjukkan perbedaan antara sel khamir yang hidup dan yang mati. *Methylene blue* akan masuk untuk mewarnai dinding sel khamir. Menurut Fugelsang, dkk. (2007) senyawa *methylene blue*

akan mengalami reaksi reduksi oksidasi dan kemudian akan menghasilkan warna ketika reaksi tersebut terjadi. Warna memudar dikarenakan reaksi reduksi dan warna biru muncul karena ada reaksi oksidasi. Sel khamir yang menunjukkan warna biru memudar dikarenakan kemampuan khamir dalam mereduksi methylene blue, sedangkan sel khamir mati berwarna biru sampai hitam karena *methylene blue* teroksidasi [11].

3.2.2 Jumlah Koloni *Saccaromyces cerevisiae*

Berdasarkan hasil dari analisa ragam menunjukkan penambahan bahan kimia antara lain Urea, KHPO₄ dan MgSO₄ sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae* berpengaruh nyata terhadap jumlah koloni *Sacharomyces cereviceae* yang tumbuh.

Hasil penelitian jumlah koloni pada media pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae*, analisis BNT (α 5%) menunjukkan jumlah koloni tertinggi pada perlakuan N1 (Urea 0,5 g dan KHPO₄ 0,5 g) yaitu $1,47 \times 10^5$ CFU/ml dan jumlah koloni terendah yang didapat pada perlakuan N3 (Urea 1 g, KHPO₄ 1 g dan MgSO₄ 0,5 g) yaitu $1,31 \times 10^5$ CFU/ml.

Data yang ditampilkan pada Tabel 2. menunjukkan jumlah koloni semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi bahan kimia yang digunakan, sedangkan jumlah koloni naik seiring berkurangnya konsentrasi bahan kimia yang digunakan.

Tabel 2. Hasil Analisis Jumlah Koloni *Saccaromyces cerevisiae* Pada Media CSA dan PDA.

Perlakuan	Jumlah Koloni (CFU/ml)
N0 (Media PDA)	$1,50 \times 10^5$ b
N1 (Urea 0,5g dan KHPO ₄ 0,5 g)	$1,47 \times 10^5$ b
N2 (Urea 1 g dan KHPO ₄ 1 g)	$1,32 \times 10^5$ a

N3 (Urea 1 g, KHPO ₄ 1 g dan MgSO ₄ 0,5 g)	1,31 x 10 ⁵ a
--	--------------------------

Keterangan : Nilai rata-rata tidak berpengaruh nyata pada uji BNT $\alpha = 5\%$.

Hasil penelitian jumlah koloni *Saccaromyces cerevisiae* pada media CSA tertinggi yaitu perlakuan N1 (Urea 0,5 g dan KHPO₄ 0,5 g) sebesar 1,47x 10⁵ CFU/ml. Jumlah koloni perlakuan N1 hampir mendekati jumlah koloni pada perlakuan N0 (Media PDA) sebesar 1,50x10⁴ CFU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa media CSA perlakuan N1 sama baiknya dengan perlakuan N0 (Media PDA) untuk menumbuhkan *Sacharomyces cerreviaceae* yang dilihat dari jumlah koloni yang tumbuh. *Sacharomyces cerreviaceae* mampu tumbuh optimal di masa inkubasi selama tiga /empat hari. Pertumbuhannya dapat didukung karena penyerapan nutrisi tambahan pada proses penanaman. Nutrien tambahan yang diberikan dapat memenuhi kebutuhan nutrisi *Sacharomyces cerreviaceae* selain asupan nutrisi dari medium pertumbuhannya sendiri [12]. Kandungan nutrisi pada kulit singkong seperti kadar air 23,44%, abu 4,88% protein 1,127% dan lemak 0,9% masih kurang untuk pertumbuhan *Sacharomyces cerreviaceae*, sehingga adanya penambahan nutrisi perlu dilakukan pada penelitian ini. *Sacharomyces cerreviaceae* membutuhkan ketersediaan nutrisi sebagai sumber energi serta pertumbuhan selnya. Ada atau tidaknya suplai nutrisi bisa berpengaruh pada pertumbuhan mikroba dan dapat menyebabkan kematian.

Nutrient berfungsi utama dalam penyediaan sumber energi, senyawa penyusun sel, dan aseptor elektron selama reaksi bioenergetik (reaksi biokimia untuk oproduksi energi) [8]. Media pertumbuhan *Sacharomyces cerreviaceae* harus mengandung makronutrien berupa sumber karbon (C), nitrogen (N), fosfat (P), kalium (K),

magnesium (Mg) serta mikronutrien berupa besi (Fe), Seng (Zn) dan Mangan (Mn). Unsur makronutrien dan mikronutrien tersebut mempengaruhi kebutuhan nutrisi untuk menunjang penggandaan sel dan pertumbuhannya [13].

Nitrogen berfungsi sebagai penyedia asam nukleat dan asam amino tunggal serta vitamin yang dibutuhkan *yeast* untuk hidup. Sumber nitrogen yang dipakai selama penelitian ini adalah Urea. Menurut Palimbani (2007), urea merupakan salah satu sumber nutrisi yang mempunyai kadar nitrogen yang besar yaitu sekitar 46% [14]. Jumlah nitrogen yang cukup tinggi yang terdapat di dalam urea dapat dijadikan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan *Sacharomyces cerreviaceae*. Fosfat dibutuhkan dalam proses pertumbuhan sel untuk mensintesa senyawa nukleotida dan senyawa fosfor, sedangkan Fe dan Zn berfungsi sebagai kofaktor pada beberapa enzim. *Sacharomyces cerreviaceae* dapat mengubah gula monosakarida dan disakarida sebagai sumber karbon dengan cepat. Sedangkan polisakarida tidak mudah karena hidrolisis ekstraseluler akan membatasi kecepatan pembentukan produk sebagai sumber energy [15].

3.2.3 Pengamatan pH pada Media Pertumbuhan *Sacharomyces cerreviaceae*

Berdasarkan hasil dari analisa ragam diketahui bahwa media CSA dengan penambahan bahan kimia antara lain urea, KHPO₄ dan MgSO₄ dibandingkan dengan media dari PDA tidak berpengaruh nyata terhadap nilai pH, hal ini terlihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil Analisis pH Pada Media CSA dan PDA untuk membiakan *Saccaromyces cerevisiae*

Perlakuan	pH
N0 (Media PDA)	5,91
N1 (Urea 0,5g dan KHPO ₄ 0,5 g)	6,02
N2 (Urea 1 g dan KHPO ₄ 1 g)	6,03
N3 (Urea 1 g, KHPO ₄ 1 g dan MgSO ₄ 0,5 g)	6,06

Keterangan : Nilai rerata tidak berpengaruh nyata pada uji BNT $\alpha = 5\%$

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa nilai pH pada media CSA perlakuan N1 (Urea 0,5 g dan KHPO_4 0,5 g) memiliki nilai pH sebesar 6,02, pada perlakuan N2 (Urea 1 g dan KHPO_4 1 g) memiliki pH sebesar 6,03 dan pada perlakuan N3 (Urea 1 g, KHPO_4 1 g dan MgSO_4 0,5 g) memiliki nilai pH sebesar 6,06. Nilai pH pada perlakuan N1 hampir mendekati nilai pH pada media N0 (Media PDA) yaitu sebesar 5,91. Hal ini menunjukkan bahwa media CSA perlakuan N1 sama baiknya dengan N0 untuk menumbuhkan *Sacharomyces cereviceae* yang dilihat dari nilai pH. Hasil ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Sugoro (2006) dengan perlakuan (ekstrak singkong + asam laktat + urea 0,125-0,5%) memiliki pH pada kisaran 5,02 – 8,3 [16].

Keasaman atau pH medium adalah salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan produk dalam proses fermentasi karena setiap mikroorganisme mempunyai kisaran pH optimal untuk tumbuh. Nilai pH yang diperoleh pada umumnya masih berada pada kisaran pH untuk pertumbuhan khamir. Kisaran pH untuk pertumbuhan khamir minimum 1,5–3,5, optimum 4,0–6,8 dan maksimum 8,0 – 8,5. Hal ini juga sesuai dengan penelitian (Anwar, 2012) nilai pH medium untuk pertumbuhan *Saccaromysces cerevisiae* yaitu 2,5–8,5 [17]. Pada medium pertumbuhan kenaikan pH terjadi karena urea terhidrolisis oleh enzim urease menjadi amonia dan karbondioksida, dimana ammonia yang terbentuk selama proses pertumbuhan sel dapat menyebabkan meningkatnya pH [18].

Nilai pH untuk pertumbuhan mikroba mempunyai hubungan dengan suhu pertumbuhannya. Kenaikan suhu

pertumbuhan akan meningkatkan pH optimum pertumbuhan. Selama fermentasi, pengontrolan pH penting karena pH optimum harus tetap bertahan selama fermentasi. Perubahan pH terjadi pada saat fermentasi karena ion H dilepaskan selama mengkonsumsi NH_4 dan ion H dikonsumsi dalam memetabolisme NO^{3-} serta saat menggunakan asam amino sebagai sumber karbon. Untuk menjaga agar pH dalam medium tetap terjaga, maka perlu adanya penambahan senyawa *buffer* misalnya KHPO_4 dan K_2HPO_4 . Dalam campuran garam tersebut garam mineral dibasis akan menyerap ion-ion H, sedang garam-garam monobasis akan menyerap ion OH [19].

3.2.4 Kadar Etanol

Berdasarkan hasil analisis ragam diketahui bahwa perlakuan penambahan bahan kimia antara lain Urea, KHPO_4 dan MgSO_4 sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae* berpengaruh sangat nyata pada kadar etanol yang dapat diamati pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis Kadar Etanol Hasil Biakan *Sacharomyces cereviceae* pada Media CSA dan PDA

Perlakuan	Kadar Etanol (%)
N0 (Media PDA)	0,23 a
N1 (Urea 0,5g dan KHPO_4 0,5 g)	1,26 d
N2 (Urea 1 g dan KHPO_4 1 g)	0,81 c
N3 (Urea 1 g, KHPO_4 1 g dan MgSO_4 0,5 g)	0,55 b

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyatamenurut uji BNT $\alpha = 5\%$.

Hasil penelitian etanol pada media pertumbuhan *Sacharomyces cereviceae* analisis BNT ($\alpha = 5\%$) menunjukkan bahwa kadar etanol tertinggi pada perlakuan N1 (Urea 0,5 g dan KHPO_4 0,5 g) yaitu 1,26%. Hasil analisis kadar etanol terendah didapat pada perlakuan N3 (Urea 1 g, KHPO_4 1 g dan MgSO_4 0,5 g) yaitu 0,55% dan pada

perlakuan N0 (Media PDA) sebesar 0,23%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa *Sacharomyces cerreviceae* dari perlakuan N1 lebih baik menghasilkan etanol dibandingkan dengan perlakuan N0 (Media PDA). Data pada Tabel 6. menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi bahan kimia yang digunakan, akan menurunkan kadar etanol. Sedangkan nilai kadar etanol naik seiring berkurangnya konsentrasi bahan kimia yang digunakan.

Hal ini terjadi karena penambahan jumlah urea ke dalam media tidak mempengaruhi aktifitas enzim alfa amilase dalam menghidrolisi pati, karena enzim yang terdapat pada suspensi pati telah mengalami kejenuhan. Whitaker (1996) berpendapat bahwa dengan penambahan atau penyediaan substrat yang lebih maka penambahan konsentrasi urea akan meningkatkan kecepatan reaksi [20]. Namun reaksi kimia akan semakin menurun kecepataannya dengan penambahan urea yang lebih banyak [21]. Peningkatan kadar glukosa akan mencapai suatu titik jenuh, pada saat di titik jenuh tersebut walaupun konsentrasi enzim dan waktu likuifikasi diperpanjang tetap tidak akan bertambah. Hal tersebut karena sisi aktif enzim sudah jenuh oleh substrat, jadi substrat tidak dapat melekat pada sisi aktif. Menurut Lehninger (1997), hal itu merupakan kecepatan maksimum dimana enzim telah jenuh dengan substratnya. Saat itulah terjadi kecepatan maksimum reaksi enzim dalam kompleks enzim dan substrat [22].

Apabila dilihat dari pH aktifitas *Sacharomyces cerreviceae* pada media CSA untuk merombak gula menjadi etanol, maka perlakuan terbaik yaitu perlakuan N1 dengan pH 6,02. Menurut Anwar (2012) pH 3,5 pertumbuhan dan aktivitas khamir belum maksimal. Hal ini diindikasikan sama pada pH 4 bahwa aktivitas khamir juga belum

maksimal memperoleh energi melalui pemecahan substrat atau katabolisme guna keperluan metabolisme dan pertumbuhan hingga pH optimal 4,5 dan diperkuat dari pendapat Santoso, dkk. (1994), bahwa rentang pH 4-6 sesuai dengan pH pertumbuhan yeast dan efektif memetabolisme gula untuk menjadi etanol. Sedangkan pH kurang dari 4, maka proses fermentasi kurang efektif karena pertumbuhan ragi terhambat. Khamir dalam kondisi pH yang optimal mampu mencerna sejumlah nutrien yang beratnya sama dengan beratnya sendiri dalam setiap beberapa detik untuk memenuhi jumlah energi yang dibutuhkan [23].

Pada proses fermentasi tersebut dengan adanya enzim invertase dan enzim zymase, *Sacharomyces cerreviceae* mampu memetabolisme monosakarida dan disakarida untuk menjadi etanol [24]. Menurut Khodijah & Abtokhi (2015) produksi etanol dari bahan baku gula oleh *Sacharomyces cerreviceae* adalah proses fermentasi yang sederhana yang hanya melibatkan satu fase pertumbuhan dan produksi [25]. Pada tahap pertumbuhan dan produksi tersebut, glukosa diubah menjadi etanol, biomasa, dan CO₂. Pada awal fermentasi, yeast membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Setelah terdapat akumulasi CO₂ kemudian reaksi menjadi anaerob, alkohol yang terbentuk akan menjadi inhibitor dalam proses fermentasi. Penghambatan ini terjadi pada saat alkohol mencapai konsentrasi sebesar 13-15%.

Agbogbo, dkk. (2007) berpendapat bahwa jumlah inoculum yang lebih sedikit akan memperlambat laju fermentasi, akan tetapi setelah sel sudah cukup banyak setelah memperbanyak dirinya maka produksi etanol akan menjadi tinggi, hal itu terjadi karena yeast akan menggunakan gula untuk menjadi substrat pertumbuhan sel dan produksi

ethanolnya [26]. Dengan konsentrasi yeast yang minim ini, maka selama fermentasi tidak terjadi akumulasi etanol yang bisa menjadi inhibitor dan sel tetap bisa menghasilkan etanol sampai akhir fermentasi. Khodijah & Abtokhi (2015) menyatakan bahwa konsentrasi yeast yang terlalu tinggi dalam fermentasi produksi etanol akan menyebabkan proses fermentasi lebih cepat. Kondisi metabolisme dan pertumbuhan pada jumlah populasi sel yang tinggi akan mengganggu keterbatasan ruang, akses nutrisi, dan interaksi antar sel [25].

3.2.5 Pengujian Gas CO₂

Pengujian gas CO₂ hasil biakan dari Media CSA maupun PDA dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Analisis gas CO₂ Hasil Biakan *Sacharomyces cerrevicae* pada Media CSA dan PDA

Perlakuan	Gas CO ₂	
	Positif	Negatif
N0 (Media PDA)	√	
N1 (Urea 0,5 g dan KHPO ₄ 0,5 g)	√	
N2 (Urea 1 g dan KHPO ₄ 1 g)	√	
N3 (Urea 1 g, KHPO ₄ 1 g dan MgSO ₄ 0,5 g)	√	

Berdasarkan Tabel 5, setelah dilakukan uji fermentasi tabung Durham terhadap *Sacharomyces cerrevicae* dari perlakuan CSA maupun PDA dapat menghasilkan gas CO₂ yang berarti positif pada semua perlakuan media CSA maupun media PDA, dengan terbentuknya gas pada tabung sehingga tabung durham naik kepermukaan. Hal ini sesuai dengan pendapat Anwar (2012) bahwa uji potensi kemampuan khamir dalam menghasilkan CO₂ dilakukan dengan menggunakan uji fermentasi metode tabung Durham, CO₂ yang dihasilkan terlihat dari naiknya tabung Durham ke permukaan karena terisi oleh CO₂. Munculnya gas dalam

tabung durham terjadi karena adanya proses fermentasi gula menjadi ethanol dan CO₂.

Menurut Dwidjoseputro (2003), gas yang dihasilkan merupakan gas CO₂ yang dihasilkan karena aktifitas mikroorganisme. Gas ini timbul sebagai hasil metabolisme aerob maupun anaerob. Jika gas CO₂ yang timbul sedikit maka gas akan larut di dalam cairan medium atau meninggalkan medium dengan jalan difusi. Jika gas CO₂ yang dihasilkan banyak dan cepat, maka akan ditunjukkan oleh buih yang timbul pada medium [27].

4. KESIMPULAN

Penambahan nutrisi dalam CSA mempengaruhi pertumbuhan *Sacharomyces cerrevicae*, penambahan nutrisi N1 (Urea 0,5 g dan KHPO₄ 0,5 g) memberikan hasil terbaik pada pengamatan jumlah koloni yang tumbuh (TPC), produktivitas CO₂, produktivitas ethanol, dan pH. Pada media CSA dengan penambahan Urea 1 g dan KHPO₄ 1 g dapat menjaga viabilitas *Sacharomyces cerrevicae* sampai minggu ke 4 dengan metode penyimpanan *subculture*.

5. PENGHARGAAN

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas muhammadiyah serta DPPM UMM yang memberikan dukungan finansial pendanaan dalam penelitian ini, saudari Mutia Pratiwi yang telah membantu pelaksanaan penelitian, serta Laboratorium ilmu dan teknologi pangan UMM yang memberikan dukungan dalam sarana prasarana penelitian.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Rukmana. 1997. Ubi Jalar Budidaya dan Pasca Panen. Kanisius. Yogyakarta

- [2]. Subagio A, Ruriani E, Nafi A. 2013, Identifikasi Potensi Mocav Sebagai Bahan Pensubstitusi Teknis Terigu pada Industri Kecil dan Menengah di Jawa Timur. *Jurnal Pangan* 22(3), 229-240.
- [3]. Farmawan R. 2015. Studi Pemanfaatan Kulit Singkong untuk Media Pertumbuhan Mikrobial. Skripsi UMM. Malang Fundamental of Food Microbiology. Avi Publishing. Connecticut
- [4]. Diana, N. A. 2017. Pengkayaan Nitrogen dan Fosfat dalam Media Alternatif PDA (*Potato Dextrose Agar*) dari Kulit Singkong untuk Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan Aplikasi pada Roti. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- [5]. Maulida, R. 2018. Efektivitas Penggunaan Ekstrak Pigmen Antosianin Bunga Mawar Merah Lokal (*Rosa* Sp.) dan Karagenan terhadap Mutu *Fruit Leather* Sirsak. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- [6]. Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta
- [7]. Rukmana, R. 2004. Bayam Bertanam dan Pengolahan Pasca Panen. Kanisius. Yogyakarta.
- [8]. Waluyo, L. 2007. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang
- [9]. Ray, B. 2001. Fundamental Food Microbiology. CRC Press. United States
- [10]. Buckle, K. A., R. A. Edward, G. H. Fleet, M. Wootton. 2007. Ilmu Pangan. UI Press. Jakarta.
- [11]. Fugelsang, K. C., C. G. Edwards. (2007). Wine Microbiology. Springer. United States
- [12]. Febriyanti, A. E., & Sari, C. N. (2016). Efektivitas Media Pertumbuhan Khamir Komersial (*Saccharomyces cerevisiae*) untuk Fermentasi Bioetanol dari Eceng Gondok. *Jurnal Bioma*, 12(2), 43–48.
- [13]. Wardani, A., & Eka Pertiwi, F. (2013). Produksi Etanol dari Tetes Tebu oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk Flok (NRRL – Y 265). *Jurnal Agritech Fakultas Teknologi Pertanian UGM*, 33 (2).<https://doi.org/10.22146/agritech.9810>
- [14]. Palimbani. 2007. Mengenal Pupuk Urea. Diakses 6 Oktober 2018. <https://pusri.wordpress.com/>
- [15]. Liesbetini Haditjaroko, K. (2014). Produksi Bioetanol dari Hidrolisat Pati Singkong Racun dengan Fermentasi Repeated-Batch oleh *Saccharomyces cerevisiae* Terimobilisasi pada Ampas Singkong. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 24(1).
- [16]. Sugoro, I. 2006. Optimasi Sumber Nitrogen Probiotik Khamir R1 dan R110 dalam Medium Ekstrak Singkong. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2006. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Nuklir Nasional. 906-911.
- [17]. Anwar. (2012). Volume Gas, pH, dan Kadar Alkohol pada Proses Produksi Bioetanol dari Acid Whey yang Difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. *Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(4), 4.

- [18]. Brown, C. M. 1980. Ammonia Assimilation and Utilization In Bacteria and Fungi. *In*; Microorganisms and Nitrogen Sources: Transport and Utilization of Amino Acids, Peptides, Proteins and Related Substrates. John Wiley & Sons. Toronto. pp. 511–538.
- [19]. Hidayat, N., M. Padaga, S. Sri. 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi. Yogyakarta
- [20]. Whitaker, A. P. F. Stanburry. 1996. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press. New York.
- [21]. Mesa, L., González, E., Cara, C., Ruiz, E., Castro, E., & Mussatto, S. I. (2010). An approach to optimization of enzymatic hydrolysis from sugarcane bagasse based on organosolv pretreatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1002/jctb.2404>
- [22]. Lehninger, A.L. 1997, Dasar Dasar Biokimia, (edisi ke-Jilid 1, diterjemahkan oleh M Thenawidjaja). Jakarta. Erlangga.
- [23]. Prescott dan Dunn. 1981. Industrial Microbiology. CBS press. New Delhi India.
- [24]. Azizah N., A. N. Al-Baarri., S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*.1(2). 72-77.
- [25]. Khodijah, S. & Abtokhi, A. (2015). Analisis Pengaruh Variasi Persentase Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dan Waktu pada Proses Fermentasi dalam Pemanfaatan Duckweed (*Lemna minor*) Sebagai Bioetanol. *Jurnal Neutrino*,71.<https://doi.org/10.18860/neu.v0i0.2989>
- [26]. Agbogbo, F. K., G. C. Kelly, M. T. Smith, T. W Jeffries. 2007. The Effect of Initial Cell Concentration on Xylose Fermentation by *Pichia Stipitis*. *Appl Biochem Biotechnol*. 137 (12). 653-662.
- [27]. Dwidjoseputro, D. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta.