

DETERMINATION OF FERMENTATION TIME AND INITIAL pH OF MEDIA IN ETHANOL PRODUCTION BY ISOLATE BM1-CP14**PENENTUAN LAMA FERMENTASI DAN pH AWAL MEDIA DALAM PRODUKSI ETANOL OLEH ISOLAT BM1-CP14****I.A. Somya Iswari P, I. M. Mahaputra Wijaya*, Ni Putu Suwariani**

Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801.

Diterima 22 Juli 2022 / Disetujui 06 September 2022

ABSTRACT

This study aims to determine the optimum duration of fermentation and the best initial pH of the growth medium BM1-CP14 isolates to produce ethanol. In this study, five treatments of fermentation time (2, 4, 6, 8 and 10 days) combined with three initial pH treatments of the fermentation medium (4, 5, and 6) were conducted. This research was carried out in several steps, namely cell rejuvenation, propagation of BM1-CP14 isolates, fermentation, distillation, and calculation of total ethanol. The best fermentation duration was found to be ten days with a difference of total dissolved solid 1.07 ($\Delta\%$ brix) yielded total ethanol of 5.08 mL. In the initial pH treatment, the media produced total ethanol at pH 4 of 5.15 mL, pH 5 of 5.17 mL and pH 6 of 5.16 mL. The pH treatment of BM1-CP14 bacteria was found to have no effect due to the total ethanol produced was almost similar

Keywords : *Bacteria, BM1-CP14 isolate, ethanol, fermentation time, pH*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama fermentasi optimum dan pH awal terbaik media pertumbuhan isolat BM1-CP14 untuk menghasilkan etanol. Pada penelitian ini dilakukan lima perlakuan waktu fermentasi (2, 4, 6, 8 dan 10 hari) yang dikombinasikan dengan tiga perlakuan pH awal media fermentasi (4, 5, dan 6). Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu peremajaan sel, perbanyak isolat BM1-CP14, fermentasi, distilasi, dan perhitungan total etanol. Lama fermentasi terbaik adalah sepuluh hari dengan selisih total padatan terlarut 1,07 ($\Delta\%$ brix) menghasilkan total etanol 5,08 mL. Pada perlakuan pH awal, media menghasilkan etanol total pada pH 4 sebesar 5,15 mL, pH 5 sebesar 5,17 mL dan pH 6 sebesar 5,16 mL. Perlakuan pH bakteri BM1-CP14 tidak berpengaruh karena total etanol yang dihasilkan hampir sama.

Kata kunci : *Bakteri, isolat BM1-CP14, etanol, waktu fermentasi, pH*

* Korespondensi Penulis

e-mail: mahaputrawijaya@unud.ac.id

PENDAHULUAN

Pertumbuhan ekonomi global setiap tahunnya telah meningkatkan konsumsi energi dan menyebabkan cadangan bahan bakar fosil semakin menipis. Selain itu, penggunaan bahan bakar fosil juga berdampak terhadap iklim dan gas rumah kaca di atmosfer. Karena permasalahan tersebut perlu adanya solusi dalam menangani peningkatan konsumsi energi dengan mendapatkan sumber energi terbarukan yang lebih ramah lingkungan.

Sebagai tanggapan, banyak negara mengembangkan biofuel yang lebih bersih dan murah (Rodionova *et al.*, 2017). Biofuel adalah bahan bakar yang dihasilkan oleh biomassa dan bahan bakar semacam ini dapat mengurangi jejak ekologis secara signifikan dibanding bahan bakar fosil tradisional (Timothy, 2021). Salah satu contoh biofuel yang banyak digunakan adalah bioetanol yang umumnya diproduksi menggunakan bahan organik melalui proses fermentasi.

Bioetanol merupakan etanol yang diproduksi melalui proses fermentasi glukosa yang terdapat pada bahan alami dengan memanfaatkan mikroorganisme tertentu. Produksi etanol secara komersial kebanyakan menggunakan yeast, salah satunya adalah *Saccharomyces cerevisiae* (Jayus *et al.*, 2016). Yeast memiliki beberapa kekurangan, diantaranya adalah a) aerasi, yeast membutuhkan O₂ untuk sintesis dinding sel, tetapi kondisi aerobik menurunkan hasil etanol (efek pasteur) dan secara bersamaan menyebabkan peningkatan produksi biomassa, b) tidak toleran dengan suhu dan pH rendah, c) riskan terkontaminasi, d) spektrum sumber daya yang terbatas, karena yeast hanya dapat menggunakan substrat dalam jumlah terbatas (Wiegel, 1980). Karena kondisi tersebut, produksi bioetanol masih dikembangkan dan mencari mikroba potensial dalam menghasilkan bioetanol lebih baik.

Berdasarkan penelitian Hakim *et al.*, 2020 telah ditemukan isolat BM1-CP14, yang merupakan isolat potensial penghasil bioetanol yang didapatkan dari Desa Merita, Karangasem di tempat penyulingan arak dengan pemaparan udara dalam waktu 60 menit. Isolat BM1-CP14 adalah bakteri gram positif, berbentuk basil (batang), bersifat anaerob (katalase negatif) dan tidak memiliki alat gerak (non-motil). Media tumbuh yang digunakan dalam fermentasi isolat BM1-CP14 yaitu media ZSM (*Zymomonas Sukrosa Medium*) dengan konsentrasi glukosa 20% dan lama fermentasi 10 hari dengan total etanol 15,33 mL serta selisih padatan terlarut 2,17% brix.

Salah satu faktor yang mempengaruhi produksi etanol, yaitu lama fermentasi. Lama fermentasi berhubungan dengan fase pertumbuhan yang dimiliki oleh mikroba untuk meningkatkan jumlah sel yang cukup banyak sehingga glukosa dipecah menjadi etanol (Amadi & Ifeanacho, 2016). Menurut Taslim *et al.*, 2017 semakin lama fermentasi, maka produksi etanol dapat berkurang karena terjadinya kematian mikroba dikarenakan kekurangan nutrisi.

Sejalan dengan penelitian Ajizah *et al.*, 2021 didapatkan hasil fermentasi dengan menggunakan isolat BM1-CP14 dengan konsentrasi glukosa yang optimal sebesar 16% menghasilkan total etanol 38,75 mL dengan fermentasi 10 hari, sedangkan lama fermentasi 14 hari menghasilkan total etanol 37,50 mL, lama fermentasi 17 hari menghasilkan total etanol 20,75 mL, dan 20 hari menghasilkan 9,00 mL. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa semakin lama waktu fermentasi total etanol yang dihasilkan semakin menurun, sehingga belum diketahui waktu fermentasi optimal bakteri BM1-CP14.

Faktor yang mempengaruhi fermentasi selain lama fermentasi, salah satunya adalah derajat keasaman (pH). Derajat keasaman (pH) berpengaruh terhadap protein, dimana perubahan pH dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein (Poedjiadi dan Titin, 2006). Denaturasi merupakan proses dimana protein mengalami kehilangan struktur kuartern, struktur tersier, dan struktur sekunder yang ada dalam keadaan aslinya. Jika protein yang terdapat pada sel hidup mengalami denaturasi, hal ini

mengakibatkan terganggunya aktivitas sel dan kemungkinan kematian sel. Protein terdenaturasi akan kehilangan strukturnya dan berakibat tidak dapat berfungsi. Salah satu kandungan media fermentasi yang berindikasi mengalami denaturasi yaitu, sulfur dimana merupakan turunan dari asam amino dan protein (Cappuccino dan Sherman, 2005).

Berdasarkan permasalahan diatas, penelitian ini ditunjukan untuk mengetahui lama fermentasi (2, 4, 6, 8, dan 10 hari) serta pH awal media (4, 5, dan 6) dalam memproduksi etanol dengan isolat BM1-CP14. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memberikan informasi waktu fermentasi dan pH awal media sehingga menghasilkan total etanol tertinggi oleh isolat BM1-CP14.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat BM1-CP14 (Hakim *et al.*, 2020) dengan media *Zymomonas Sukrosa Medium* (ZSM) antara lain *yeast extract*, *amonium sulfate* ((NH₄)₂ SO₄) (Merck), 2 g/L *potassium phosphate* (KH₂PO₄) (Merck), 0,5 g/L *magnesium sulfate* (MgSO₄ 7H₂O₄) (Merck), glukosa (Brataco), NaCl 0,85% (KgaA), NaOH, asam asetat, aquades, natrium metabisulfat (Aloin Labora) dan gliserol 40%.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer *UV-visible* (Libra), refraktometer (*manual refractometer Rhb-32atc brix*), alkoholmeter, pH meter, distilator bertingkat, *centrifuge* (UniCen MR-Herolab GmbH), *autoclave* (Daihan Scientific), *shaker rotator* (HEALTH), timbangan analitik (Camry), *vortex* (Thermo Scientific), *laminar air flow* (WINA Instruments), kompor listrik, tabung reaksi (PYREX), erlenmeyer (IWAKI), gelas beker (Pirex-Iwaki), botol kaca (Duran), gelas ukur (PYREX), pipet mikro, aluminium foil, tabung reaksi, bunsen, kapas, serta alat dokumentasi dan alat tulis.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif-eksperimental ditunjukkan untuk mengetahui lama fermentasi dan pH awal media dalam memproduksi etanol oleh isolat BM1-CP14. Rancangan percobaan ini memiliki 2 tahapan yang pertama menentukan lama fermentasi pada isolat BM1-CP14 dalam memproduksi etanol yang terdiri dari lima taraf yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 hari. Tahapan kedua menentukan pH awal media dengan lama fermentasi terbaik pada media fermentasi isolat BM1-CP14 dalam memproduksi etanol yang terdiri dari tiga taraf yaitu 4, 5, dan 6.

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan Kultur BM1-CP14

Pelaksanaan penelitian diawali dengan proses peremajaan isolat BM1-CP14 menggunakan media *Zymomonas Sukrosa Medium* (ZSM). Setelah itu, isolat BM1-CP14 diinkubasi di suhu ruang menggunakan *shaker rotator* dengan kecepatan 100 rpm selama 48 jam. Proses selanjutnya dilakukan perbanyakkan kultur dengan menginokulasikan kedalam volume media yang lebih besar dan diinkubasi pada suhu ruang menggunakan *shaker rotator* dengan kecepatan 100 rpm selama 18 jam. Hasil yang didapatkan dari proses perbanyakkan isolat BM1-CP14 disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya, dilakukan pencucian pelet sel dengan menggunakan NaCl 0,85% dan disentrifugasi kembali. Pencucian pelet sel menggunakan NaCl 0,85% dilakukan sebanyak 2 kali. Pelet sel yang didapatkan dari proses pencucian disamakan tingkat kekeruhannya (*adjust*) yang diatur dengan nilai OD₆₆₀±5 menggunakan *spektrofotometri* (Simbolon *et al.*, 2018).

Fermentasi Etanol dengan Variasi Lama Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan pada media ZSM dengan volume 600 mL menggunakan konsentrasi glukosa 16% (Ajizah *et al.*, 2021) dengan perlakuan lama fermentasi 2, 4, 6, 8, dan 10 hari serta dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Glukosa disterilisasi dengan proses tindalisasi dengan suhu 80°C selama 1 jam dilakukan 3 kali selama 3 hari dan diinkubasi 24 jam (Hafsan, 2014), lalu dihomogenkan dengan media lainnya didalam laminar *air flow*. Media fermentasi yang sudah siap dan pelet sel isolat BM1-CP14 yang sudah sesuai tingkat kekeruhannya (*adjust*) diinokulasi kedalam media ZSM sebanyak 1% dari banyaknya media fermentasi yang digunakan, lalu diinkubasi pada suhu ruang dengan variasi lama fermentasi yang ditentukan. Hasil dari fermentasi selanjutnya didistilasi menggunakan distilator bertingkat pada suhu 85°C dan dihitung total etanolnya (Wulandari *et al.*, 2019).

Fermentasi Etanol dengan Lama Fermentasi yang Diperoleh dengan Variasi pH Awal Media

Fermentasi selanjutnya dilakukan dengan lama fermentasi terbaik yang didapatkan pada perlakuan waktu fermentasi dan dilakukan dengan pH awal media yaitu 4, 5, dan 6. Fermentasi etanol dilakukan dengan menginokulasi pelet sel isolat BM1-CP14 yang sudah sesuai tingkat kekeruhannya (*adjust*) sebanyak 1% dari media yang digunakan dengan variasi pH awal media. Hasil dari perlakuan pH awal media 4, 5, dan 6 kemudian didistilasi menggunakan distilator bertingkat pada suhu 85°C dan dihitung total etanolnya.

Variabel yang Diamati

Variabel penelitian ini yang akan dianalisis yaitu pengujian kadar etanol menggunakan alkoholmeter pada distilat, total volume etanol, pengukuran padatan terlarut sebelum dan sesudah fermentasi, serta pengukuran pH awal dan akhir.

HASIL DAN PEMBAHASAN

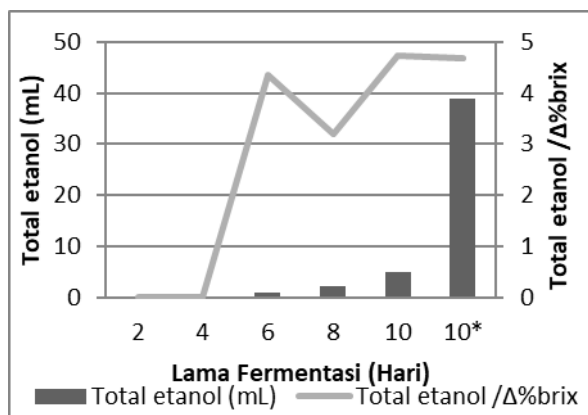
Lama Fermentasi dalam Produksi Etanol

Produksi etanol dipengaruhi oleh lama fermentasi, dimana jumlah mikroba bertumbuh seiring pertambahan waktu fermentasi (Amadi & Ifeanacho, 2016). Pada penelitian ini dilakukan 5 perlakuan lama fermentasi 2, 4, 6, 8, dan 10 hari menggunakan konsentrasi glukosa 16% (Ajizah *et al.*, 2021) dengan volume fermentasi 600 mL. Hasil total etanol yang didapatkan disajikan pada Gambar 1 dan total padatan terlarut pada Tabel 1.

Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel, dapat dilihat total etanol hari ke 2 dan 4 tidak menghasilkan etanol hal tersebut kemungkinan disebabkan metode pengukuran kadar alkohol menggunakan alkoholmeter sehingga tidak dapat terbaca dikarenakan kadar alkohol yang dihasilkan kurang dari 1%. Penurunan total padatan terlarut tertinggi terjadi pada lama fermentasi 10 hari, memiliki padatan terlarut awal $15,13 \pm 0,12\%$ brix menjadi $14,06 \pm 0,21\%$ brix dengan selisih total padatan terlarut sebanyak $1,07 \pm 0,16 (\Delta\% \text{brix})$. Total etanol yang dihasilkan dengan lama fermentasi 10 hari sebanyak $5,08 \pm 0,14$ mL. Namun bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yaitu Ajizah *et al.*, 2021 menghasilkan total etanol $38,75 \pm 1,77$ mL dengan selisih total padatan terlarut sebanyak $8,30 \pm 0,42 (\Delta\% \text{brix})$. Jika dibandingkan penelitian ini mengalami penurunan dari penelitian sebelumnya sebesar 33,67 mL.

Dikarenakan hasil total etanol yang didapatkan pada penelitian ini mengalami penurunan, maka dilakukan percobaan lanjutan untuk mengetahui penyebab perubahan. Adapun percobaan yang dilakukan yaitu, pengecilan *headspace*, pengecekan OD sebelum dan sesudah fermentasi,

pengecekan pH awal dan akhir, percobaan fermentasi secara sistem *fed-batch*, dan perubahan media menjadi *Pepton Yeast Glucose* (PYG).



Lama Fermentasi (Hari)	Padatan terlarut awal (% brix)	Padatan terlarut akhir (% brix)	Selish total padatan terlarut (Δ % brix)
2	15,20 ± 0,20	15,20 ± 0,20	0,00 ± 0,00
4	15,13 ± 0,12	15,13 ± 0,12	0,00 ± 0,00
6	15,20 ± 0,20	15,00 ± 0,14	0,20 ± 0,14
8	15,20 ± 0,20	14,53 ± 0,31	0,67 ± 0,36
10	15,13 ± 0,12	14,06 ± 0,21	1,07 ± 0,16
10 *	13,40 ± 0,57	5,10 ± 0,42	8,30 ± 0,42

Gambar 1 Total etanol dengan lama fermentasi

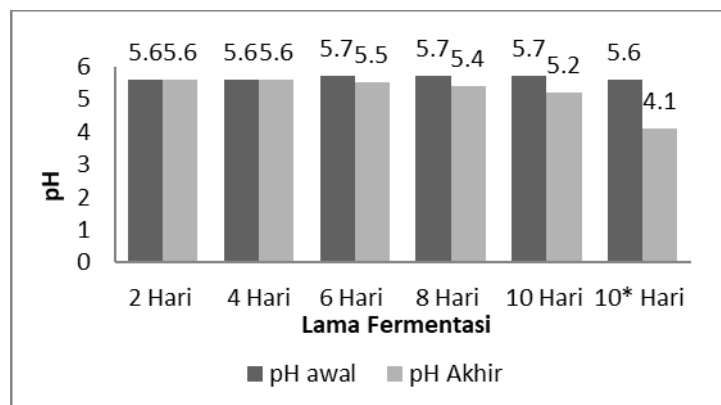
Tabel 1 Total padatan terlarut dengan lama fermentasi

Keterangan: Data hari ke 10 perbandingan direproduksi dari Ajizah *et al*, 2021

Perubahan *headspace* pada penelitian ini dilakukan untuk memperkecil rongga udara pada fermentor. Berdasarkan Maier, 2008 adanya oksigen pada saat fermentasi dapat mempengaruhi produksi etanol dikarenakan membuat mikroba melakukan respirasi *aerob* yang berpengaruh terhadap pembentukan sel massa yang baru, sedangkan fermentasi dapat berjalan jika kondisi *anaerob*. Karena hal tersebut, penelitian ini melakukan pengecilan *headspace* sebesar 50 mL dimana pada penelitian sebelumnya sebesar 100 mL. Setelah dilakukan pengecilan *headspace* pada penelitian ini total etanol yang dihasilkan tidak mengalami perubahan.

Pada tahapan penelitian setelah pencucian sel dilakukan pengecekan OD₆₆₀. Pengecekan OD₆₆₀ biasanya dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan mikroba. Pada penelitian ini didapatkan OD₆₆₀ sebelum dituangkan ke media fermentasi sebesar 6,038. Nilai OD₆₆₀ setelah pelet sel dituang ke dalam media sebesar 0,942 dan pada hari ke 10 menjadi 3,662. Jika dibandingkan hasil yang didapat mengalami peningkatan yang berarti terjadinya perbanyakan sel. Kemungkinan etanol yang dihasilkan tidak maksimal dikarenakan tidak mengalami metabolisme yang optimal.

Pengukuran pH awal dan akhir fermentasi dilakukan untuk mengetahui adanya penurunan pH sebagai indikasi fermentasi. Berdasarkan Vasconcelos, 2015 fermentasi merupakan proses pemecahan glukosa yang diubah menjadi etanol, karbondioksida, dan asam organik. Jika penurunan pH terjadi maka terjadinya proses fermentasi sehingga dihasilkan asam organik dari pemecahan glukosa. Jika penurunan pH terjadi maka terjadinya proses fermentasi sehingga dihasilkan asam organik dari pemecahan glukosa. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan pengecekan pH awal media dan akhir fermentasi. Hasil uji pH dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Hasil Uji pH

Keterangan: Data hari ke 10 perbandingan direproduksi dari Ajizah *et al*, 2021

Berdasarkan hasil uji didapatkan rata-rata pH akhir pada hari ke 10 sebesar $5,2 \pm 0,07$ sedangkan pada penelitian Ajizah *et al*, 2021 pada hari ke 10 sebesar 4,1, hal tersebut kemungkinan dikarenakan pemecahan glukosa yang tidak optimal didasari total padatan terlarut pada penelitian ini yang jauh berbeda.

Pada penelitian ini, dikarenakan hasil total etanol yang tidak optimal maka dicoba dilakukan percobaan lanjutan dengan fermentasi secara sistem *fed-batch*. Fermentasi sistem *fed-batch* merupakan sistem fermentasi yang menambahkan media baru secara teratur pada kultur tertutup, tanpa mengeluarkan kultur yang ada pada fermentor (Rachman, 1989). Penggunaan fermentasi dengan sistem *fed-batch* ini dilakukan untuk mencegah terjadinya inhibisi substrat dan efek toksik dari komponen media (Satiawihardja, 1999). Selain itu, fermentasi dengan sistem *fed-batch* dilakukan untuk berjaga-jaga akan glukosa yang tinggi. Hasil total etanol yang didapatkan setelah menggunakan sistem fermentasi *fed-batch* sebesar 5 mL. Hasil percobaan tersebut menunjukkan tidak adanya perubahan dalam kemampuan memproduksi etanol.

Selain itu, dilakukannya percobaan menggunakan media *Pepton Yeast Glucose* (PYG) yang merupakan media yang biasa digunakan untuk mengetahui reaksi fermentasi dan produk akhir metabolisme mikroba anaerob. Penggunaan media PYG pada penelitian ini dikarenakan kaya akan nutrisi. Salah satu kandungan pada media PYG yaitu vitamin K. Dimana vitamin K berguna dalam pertumbuhan bakteri dan khususnya bakteri positif. Setelah dilakukannya fermentasi menggunakan media PYG didapatkan hasil sebesar 5,02 mL. Percobaan fermentasi dengan isolat BM1-CP14 menggunakan media PYG tidak ada perubahan dalam memproduksi etanol.

Beberapa percobaan yang telah dilakukan pada isolat BM1-CP14 dalam produksi etanol menunjukkan tidak adanya perubahan. Dari hasil yang didapatkan, etanol yang dihasilkan rata-rata sebesar 5 mL. Kemungkinan yang terjadi pada isolat BM1-CP14 mengalami mutasi, dimana hasil fermentasi mengalami penurunan. Sejalan dengan Najafi dan Pazeshki, 2013 hasil mutasi umumnya merupakan perubahan produk akhir yang dimana dapat bermanfaat jika aktivitas metabolisme baru muncul atau dapat merugikan jika aktivitas metabolisme menghilang. Pada kasus ini kemungkinan aktivitas metabolisme glukosa menurun dimana etanol yang dihasilkan berkurang secara drastis dari penelitian sebelumnya.

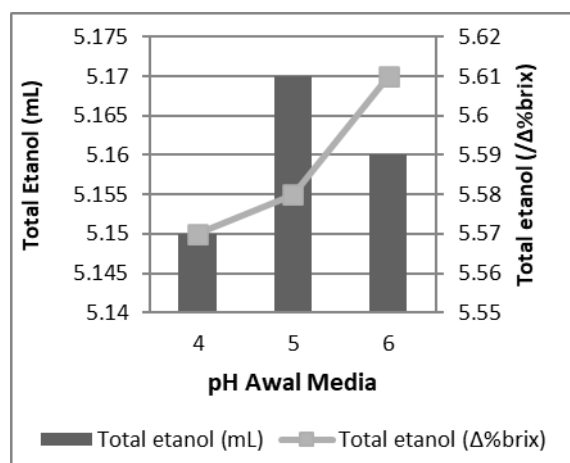
Menurut Foster, 2008 penyebab bakteri dapat stres sehingga bermutasi dikarenakan kekurangan nutrisi, perubahan suhu, kerusakan DNA dan paparan antibiotik. Bakteri yang bermutasi akan kehilangan kemampuan pertumbuhan dalam memanfaatkan sumber karbon atau nitrogen dan kegagalan dalam tumbuh (Maloy, 2013). Setelah ditelusuri kemungkinan penyebab terjadinya mutasi

pada isolat BM1-CP14 kemungkinan dikarenakan perubahan dari situasi lingkungan asalnya dan nutrisi yang diperoleh. Dimana bakteri BM1-CP14 ditemukan di udara tempat penyulingan arak, kemudian diisolasi dengan menggunakan media kimia dan dilakukan beberapa perlakuan yang menyebabkan bakteri BM1-CP14 harus beradaptasi dengan lingkungan.

Bakteri BM1-CP14 disimpan dengan metode pembekuan, menurut penelitian Shakirova *et al*, 2008 bakteri yang mengalami penurunan kemampuan dikarenakan pembekuan dan penyimpanan yang lama. Penyimpanan bakteri yang paling umum menggunakan metode pembekuan, suhu paling efektif sebesar -70°C hingga -90°C , sedangkan suhu *freezer* yang digunakan memiliki suhu -30°C dengan lama penyimpanan selama 12 bulan. Selain itu, pada kasus ini setelah diusut terjadi kerusakan *freezer* tempat menyimpan stok kultur isolat pada awal pandemi selama kurang lebih 1 bulan, sehingga stok kultur isolat yang tersimpan pada kondisi suhu ruang. Karena adanya perubahan kondisi, suhu dan penyimpanan yang lama menyebabkan bakteri BM1-CP14 besar kemungkinan kehilangan kemampuan memfermentasi.

pH Awal Media dalam Produksi Etanol

Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri dan pembentukan produk dalam proses fermentasi etanol adalah derajat keasaman (pH). Setiap bakteri mempunyai kisaran pH optimal, pada penelitian ini menggunakan perlakuan pH awal media 4, 5, dan 6 untuk mendapatkan total etanol terbaik. Hasil total etanol setelah didistilasi dengan menggunakan lama fermentasi 10 hari dapat dilihat pada Gambar 3 dan total padatan terlarut pada Tabel 2.



Gambar 3 Total etanol dengan pH awal media

pH awal media	Padatan terlarut awal (%brix)	Padatan terlarut akhir (%brix)	Selisih padatan terlarut (Δ % brix)
4	15,27±0,12	14,33±0,23	0,94±0,12
5	15,13±0,12	14,27±0,41	0,94±0,12
6	15,20±0,20	14,33±0,31	0,94±0,12

Tabel 2. Total padatan terlarut dengan pH awal media

Derajat keasaman (pH) dalam metabolisme bakteri sangat penting karena struktur/fungi makromolekul biologis, terutama protein tergantung pada pH. Selain itu pH berpengaruh terhadap konsentrasi metabolit seluler lainnya dan dapat mempengaruhi kinetika dan reaksi kimia yang melibatkan proton sebagai metabolit (Clemente *et al*, 2018). Sejalan dengan hasil penelitian dimana didapatkan hasil penurunan total padatan terlarut pada 3 perlakuan pH awal media menghasilkan selisih total padatan terlarut yang sama sebesar $0,94 \pm 0,12$ (Δ%brix). Total etanol yang dihasilkan pada pH 4 sebesar $5,15 \pm 0,25$ mL, pH 5 sebesar $5,17 \pm 0,29$ mL, dan pada pH 6 sebesar $5,16 \pm 0,21$ mL. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan perlakuan pH tidak mempengaruhi total etanol yang dihasilkan, dikarenakan total etanol yang dihasilkan hampir sama. Pada kasus ini kemungkinan

dikarena isolat BM1-CP14 mengalami mutasi menyebabkan pH tidak berpengaruh pada fermentasi isolat BM1-CP14 dikarenakan bakteri mengalami homeostasis terhadap pH media fermentasi yang membuat proses fermentasi tidak optimal.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi tertinggi pada hari ke 10 dengan hasil total etanol sebanyak 5,08 mL. Pada perlakuan pH awal media menghasilkan total etanol pada pH 4 sebesar 5,15 mL, pH 5 sebesar 5,17 mL dan pH 6 sebesar 5,16 mL. Perlakuan pH pada bakteri BM1-CP14 tidak berpengaruh dikarenakan total etanol yang dihasilkan hampir sama.

Saran

Adapun saran dari penelitian ini adalah perlu adanya peralatan yang memadai untuk menyimpan stok kultur dan penelitian lebih lanjut tentang pengujian terjadinya mutasi serta pengembalian (*recovery*) kemampuan fermentasi alkohol pada isolat BM1-CP14 ini seperti yang telah dilakukan oleh Prameshwari et al, 2020 (belum dipublikasikan).

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, N.L., I. M. M. Wijaya., & N. S. Antara. 2021. Variasi konsentrasi glukosa pada media tumbuh dan lama fermentasi dalam memproduksi etanol oleh isolat BM1-CP14. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 9(2): 208 – 218.
- Amadi, P.U., M. O. Ifeanchi. 2016. Impact of change in fermentation time, volume of yeast, and mass of plantain pseudo-stem substrate on the simultaneous saccharification and fermentation potentials of African land snail digestive juice and yeast. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 14(2): 289-297
- Cappuccino, J. G dan N. Sherman. 2015. *Microbiology*. New York. Pearson. Ninth Edition.
- Clemente, R. S., M. I. Igeno., A. G. Poblacion., M. I. Guijo., F. Merchan., & R. Blasco. 2018. Study of pH changes in media during bacterial growth of several environmental strains. *Proceedings*. 2(1297): 1 – 5
- Foster, Patricia. L. 2007. Stress induced mutagenesis in bacteria. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 42(5): 373 -397.
- Hafsan. 2014. *Mikrobiologi Analitik*. Alaudin University Press. Makasar.
- Hakim, A.A., I. M. M. Wijaya., & I. B. W. Gunam. 2020. Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil etanol dari lingkungan industri arak bali di Desa Merita dan Tri Eka Buana, Karangasem-Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 8 (2): 279–289.
- Jayus, J., Iga, V. N., & N. Nurhayati. 2016. Produksi bioetanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* FNCC321 pada media molase dengan kecepatan agitasi dan aerasi yang berbeda. *Jurnal Agroteknologi*. 10(2): 184 – 192
- Kenneth, E.S, Daniel, R.Z. 2004. Storing, shipping, and maintaining records on bacterial strains. *Methods in Enzymology*. 204(1991): 248 – 264
- Maier, R. M. 2008. Bacterial growth. *Review of Basic Microbiological Concepts*. 3(1): 39 -54
- Maloy, Stanley. 2013. Bacterial Genetics. *Encyclopedia of Biodiversity*. 7(2): 317 – 325.

- Najafi, M. B. H, Pazeshki, P. 2013. Bacterial mutation; types, mechanisms and mutant detection methods: a review. *European Scientific Journal*. 4(4): 628 – 638
- Parker, N., M. Schneegurt., A. H. Thi Tu., B. M. Forster. dan P. Lister. 2012. *Microbiology*. Rice University. OpenStax.
- Poedjiadi, A dan T. Supriyanti. 2006. *Dasar-dasar biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Prameshwari, Jamas. 2022. Optimasi produksi etanol dengan variasi suhu dan perbandingan media fermentasi menggunakan isolat IS 258. Skripsi. Belum dipublikasikan
- Rachman, A. 1989. *Pengantar teknologi fermentasi*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB
- Ratzke, C. dan Gore, J. (2018). Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. *PLOS Biology*, 16(3).
- Rodionova, M. V., R. S. Poudyal., I. Tiwari., R. A. Voloshin., S. K. Zharmukhamedov., H. G. Nam., B. K. Zayadan., B.D. Bruce., H. J. M. Hou., S. I. Allakhverdiev. 2017. Biofuel production: challenges and opportunities. *Internasional Journal of Hydrogen Energy*. 42(12): 8450 – 8461
- Satiawihardja, B., B. Wibisono., & U. Murdiyatmo. Proses fermentasi *fed-batch* untuk produksi dekstranase dengan *Streptococcus sp.* B7. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 64 – 68
- Shakirova, L., Liliya. A., & Grube, M. 2008. Relationship between the cell surface hydrophobicity and survival of bakteri *Zymomonas mobilis* after exposures to ethanol, freezing or freeze-drying. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 35: 1175 – 1180.
- Simatupang, Y. V., I. M. M. Wijaya & N. S. Antara. 2018. Isolasi dan karakterisasi bakteri potensial penghasil etanol dari industri arak bali di Karangasem-Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(1): 58–71.
- Simbolon, N. C., I. M. M. Wijaya & I. B. W. Gunam. 2018. Isolasi dan karakterisasi khamir potensial penghasil bioetanol dari industri arak di Krangasem Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 6(4): 316–326
- Siswanto, D., S. Mujiyanto, Surharyati, S. H. Pambudi, J. L. Wibowo dan N. I. Pratiwi. 2019. Outlook energi indonesia 2019. *Dewan Energi Nasional*
- Taslim, Mulyadi, M. Mailoa dan M. Rijal. 2017. Pengaruh ph dan lama fermentasi terhadap produksi ethanol dari *Sorgassum crassifolium*. *Jurnal Biologi Science & Education*. 6(1): 13 – 25
- Timothy J. Tse., Daniel J. W., & Reaney M. J.T. Production of bioethanol—a review factors affecting ethanol yield. *Fermentation*. 7(268): 1 – 18.
- Vasconcelos, J. N. 2015. Ethanol fermentation. *Agricultural Production, Bioenergy and Ethanol*. 15: 311-340
- Wiegel, J. (1980). *Formation of ethanol by bacteria. A pledge for the use of extreme thermophilic anaerobic bacteria in industrial ethanol fermentation processes*. *Experientia*, 36(12), 1434–1446. doi:10.1007/bf01960144
- Wulandari, I. A.. E. P. 2019. Optimasi konsentrasi yeast extract dan peptone pada media tumbuh khamir potensial isolat IS 258 untuk produksi etanol optimal. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Industri. Universitas Udayana.
- Poedjiadi, A dan T. Supriyanti. 2006. *Dasar-dasar biokimia*. Jakarta: UI Press.