



dapat diakses melalui:
<https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo/index>



Pengaruh Suplementasi Ion Logam Besi Terhadap Kinerja Fermentasi dan Toleransi Sel Ragi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Cekaman Lingkungan

Saadah D.Rachman^a, Tysza Ainnunnisa Maulidya Putri^a, Agus Safaria^a, Nenden I. Anggraeni^a, Muhammad Fadhilillah^a, Safri Ishmayana^{a*}

^aDepartemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

KATA KUNCI

Bioethanol
Saccharomyces cerevisiae
 Ion logam besi (II)
 Toleransi cekaman

ABSTRAK

Selama proses fermentasi bioetanol, ragi *Saccharomyces cerevisiae* terpapar berbagai cekaman lingkungan. Ion logam yang berpotensi untuk meningkatkan kinerja fermentasi dan toleransi sel terhadap cekaman ialah ion logam besi II (Fe^{2+}) yang berperan sebagai kofaktor dalam berbagai proses metabolisme. Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh suplementasi ion Fe^{2+} dalam media fermentasi terhadap kinerja fermentasi, serta toleransi sel ragi terhadap cekaman etanol, oksidatif, asam lemah dan tekanan osmotik. Penelitian diawali dengan melakukan fermentasi glukosa menggunakan *S. cerevisiae* A12 selama 120 jam dengan pengambilan sampel dengan interval waktu 6 jam untuk 24 jam pertama serta 12 jam untuk sisanya. Masing-masing sampel ditentukan nilai $\text{OD}_{600\text{nm}}$, persentase sel hidup, jumlah sel hidup, kadar glukosa, kadar etanol. Pada jam ke 24, sel diuji daya tahannya terhadap cekaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ion logam Fe^{2+} hanya mampu meningkatkan laju produksi etanol, tetapi tidak mempengaruhi parameter lain.

KEYWORDS

Bioethanol
Saccharomyces cerevisiae
 Ferrous ion
 Stress tolerance

ABSTRACT

During bioethanol fermentation process, *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells are exposed to various environmental stress factors. One of metal ions that have potency for improving fermentation performance and yeast stress tolerance is ferrous ion (Fe^{2+}) that acts as cofactors in various metabolism process. The present study was directed to investigate the effect of ferrous ion supplementation to the fermentation media on fermentation performance, improving yeast stress tolerance against ethanol, oxidative, weak acid and hyperosmotic stresses. The fermentation was conducted by fermenting glucose using *S. cerevisiae* strain A12 for 120 hours. The sampling was performed every 6 hours during the first 24 hours and 12 hours for the rest of fermentation. The sample was examined for their $\text{OD}_{600\text{nm}}$, total cell number, viable cell number, glucose content and ethanol content. At 24 hours the cell was examined for their stress tolerance. The result of the present study indicates that supplementation using ferrous ion improve the rate of ethanol production, but not other parameters.

TERSEDIA ONLINE

01 Agustus 2020

Pendahuluan

Bahan bakar fosil merupakan bahan bakar utama yang banyak dikonsumsi di seluruh dunia. Sebanyak 82% energi utama yang digunakan di dunia ialah energi fosil.

Namun, seiring berjalannya waktu persediaan bahan bakar fosil semakin menipis (Shafiee & Topal, 2009). Bahan bakar fosil juga menimbulkan banyak dampak negatif salah satunya ialah polusi udara. Hal ini mengarah pada penemuan bahan bakar alternatif yang

lebih ramah lingkungan, yang menjadi energi terbarukan dan dapat berkelanjutan khususnya untuk sektor energi dan industri. Namun, hanya terdapat lima energi alternatif yang dapat dimanfaatkan, seperti energi angin, udara, air, panas dan biofuel. Energi alternatif yang banyak digunakan ialah bioetanol (Azhar *et al.*, 2017).

Bioetanol dapat dikatakan sebagai bahan bakar yang menjanjikan karena dapat menjadi alternatif untuk menggantikan bahan bakar fosil yang merupakan bahan bakar yang tidak dapat diperbarui. Selain itu, dapat pula menjadi bahan bakar yang dapat menghasilkan jumlah karbon yang lebih sedikit daripada bahan bakar berbasis minyak. Bioetanol yang dihasilkan dari fermentasi gula, dapat mengurangi efek rumah kaca sebanyak 86 hingga 90% (Fakruddin *et al.*, 2013). Produksi bioetanol dapat dihasilkan dari sumber bahan baku berupa pati, serat (lignoselulosa), buah-buahan dan gula (molase tebu). Bahan baku tersebut dapat diubah secara langsung menjadi etanol (Fakruddin *et al.*, 2013). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi produksi bioetanol telah banyak dikaji antara lain, jenis mikroba yang akan mempengaruhi waktu dan kadar alkohol yang akan dihasilkan dari proses fermentasi, jumlah mikroba yang digunakan serta media tumbuh dari mikroba tersebut (Ishmayana *et al.*, 2011; Moeksin & Francisca, 2010).

Mikroorganisme yang umum digunakan pada proses produksi bioethanol adalah *S. cerevisiae* yang termasuk kelompok ragi yang memiliki daya tahan paling tinggi terhadap suhu yang tinggi (thermotolerant) dan konsentrasi etanol yang tinggi (Riles & Fay, 2019). Selama fermentasi etanol, sel-sel ragi secara simultan dan berurutan terkena sejumlah cekaman diantaranya ialah tekanan osmotik, etanol, panas, dan oksidatif (Auesukaree, 2017). Salah satu indikator sel ragi terpapar cekaman dapat ditandai dengan meningkatnya produksi asam di dalam sel sehingga asam yang diekskresikan ke dalam media fermentasi juga meningkat (Giannattasio *et al.*, 2005).

Pada proses produksinya, sel ragi yang berperan untuk mengubah gula menjadi etanol, terpapar berbagai cekaman. Banyak penelitian yang telah menunjukkan bahwa efek mematikan dari kondisi cekaman terhadap sel ragi dapat dikurangi dengan cara memodifikasi komposisi media pertumbuhan (Ding *et al.*, 2009; Xue *et al.*, 2008). Modifikasi komposisi media pertumbuhan salah satunya dengan suplementasi logam. Suplementasi logam dapat berfungsi sebagai pelindung suatu sel. Beberapa contoh ion logam yang dapat berperan sebagai suplemen antara lain Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} dan Co^{2+} yang dilaporkan dapat meningkatkan toleransi sel ragi terhadap cekaman dan juga meningkatkan kinerja fermentasi sel ragi dalam menghasilkan etanol (Xue, *et al.*, 2008). Salah satu peranan ion logam dalam sel hidup adalah sebagai

kofaktor yang diperlukan untuk berlangsungnya reaksi enzimatik (Rachman *et al.*, 2018; Rachman *et al.*, 2019).

Ion logam besi merupakan salah satu nutrisi penting untuk sel eukariot karena berperan dalam berbagai reaksi oksidasi-reduksi sel seperti pada proses respirasi sel, replikasi DNA dan perbaikan, biosintesis lipid dan transportasi oksigen, walaupun pada kondisi tertentu dapat menjadi racun (Li & Ward, 2018). Namun, hal tersebut tergantung pada konsentrasi ion logam besi pada media pertumbuhan. Apabila konsentrasi ion logam di dalam media pertumbuhan terlalu banyak, dapat menjadi racun bagi sel ragi (Gaensly *et al.*, 2014).

Penelitian ini mempelajari bagaimana pengaruh suplementasi ion logam besi (II) ke dalam media fermentasi terhadap kinerja fermentasi dan toleransi sel ragi terhadap berbagai cekaman lingkungan seperti cekaman etanol, tekanan osmotik, asam lemah dan oksidatif. Dengan meningkatkan kinerja fermentasi dan toleransi sel ragi terhadap cekaman, diharapkan dapat meningkatkan produksi etanol pada proses fermentasi sehingga dapat menurunkan energi yang diperlukan pada proses distilasi untuk pemurnian etanol, yang pada akhirnya akan menekan biaya produksi secara keseluruhan.

Material dan Metode

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak ragi, pepton, ammonium sulfat, magnesium sulfat heptahidrat, kalsium klorida, asam borat, niasin, mangan sulfat, pirodoksин HCl, seng sulfat, tiamin HCl, kalsium D pantotenat, feri klorida, natrium molibdat dihidrat, riboflavin, asam p-amino benzoate, kalium iodida, asam folat, biotin, DL-metionin, DL-triptofan, L-histidin, inositol, glukosa, alkohol dehydrogenase, NAD^{+} , tetra natrium pirofosfat, semikarbazida HCl, glisin, air suling, dan etanol.

Alat

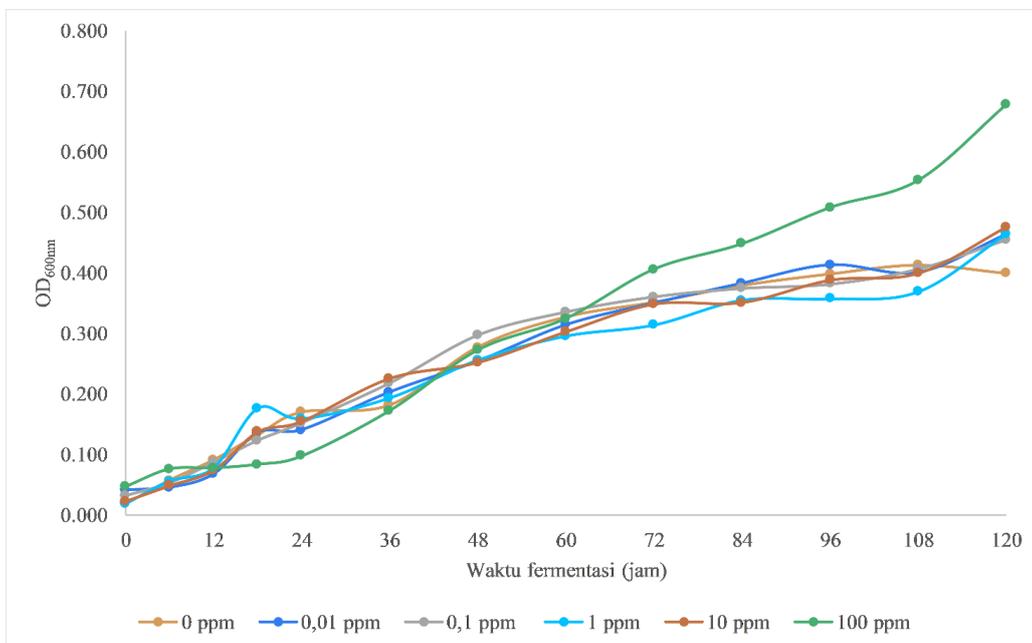
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulkas $4^{\circ}C$ (LG-Expresscool), incubator, mikropipet, tip mikropipet, tabung mikrosentrifugasi, timbangan analitis digital (Mettler-Toledo), freezer $-20^{\circ}C$ (Modena), mikroskop, GENESYS 10S UV-Vis spectrophotometer, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan dalam laboratorium penelitian kimia.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan pada penelitian ini telah dipublikasikan pada Rachman *et al.* (2019). Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah komposisi ion besi dalam media. Media yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 1, dan variasi konsentrasi ion besi yang digunakan adalah 0,00; 0,01; 0,10; 1,00; 10 dan 100 ppm.

Tabel 1. Komposisi media YNB yang digunakan pada penelitian ini. Nilai yang disebutkan pada tabel adalah konsentrasi dalam 1 liter (Rachman et al., 2019)

Bahan	Massa (mg)	Bahan	Massa (mg)
Amonium sulfat	5000	Mangan sulfat	0,4
Monokalium fosfat	1000	Piridoksin HCl	0,4
Magnesium sulfat	500	Seng sulfat	0,4
Natrium Klorida	100	Tiamin HCl	0,4
L-histidin monohidroklorida	10	Kalsium D-pantotenat	0,4
DL-metionin	20	Natrium molibdat dihidrat	0,2
DL-triptofan	20	Riboflavin	0,2
Inositol	2	Asam p-amino benzoate	0,2
Asam borat	0,5	Kalium iodide	0,1
Niasin	0,4	Tembaga Sulfat	0,04
Biotin	0,002	Asam folat	0,002



Gambar 1. Kerapatan optis (OD_{600nm}) sel *S. cerevisiae* pada media YNB dengan 10% b/v glukosa dengan variasi konsentrasi Fe²⁺ 0 ppm ; 0,01 ppm ; 0,1 ppm ; 1 ppm ; 10 ppm dan 100 ppm.

Hasil dan Pembahasan

Peranan Suplementasi Ion Besi (II) Terhadap Pertumbuhan Sel Ragi

Konsentrasi glukosa awal yang digunakan pada percobaan ini adalah 10% b/v. Suplementasi Fe²⁺ ditambahkan ke dalam media sampai konsentrasi akhir mencapai 0 (kontrol); 0,01; 0,1; 1; 10 dan 100 ppm. Kurva pertumbuhan ditentukan dengan metode turbidimetri yaitu dengan mengukur kerapatan optik menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Metode turbidimetri merupakan metode yang sederhana dan dapat dilakukan dengan mudah dan cepat. Menurut Syaqui (2017) kerapatan optik merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari pertumbuhan mikroba karena pengukuran

ini memungkinkan untuk mengikuti pertumbuhan populasi secara real time. Namun, metode ini juga memiliki kekurangan yakni keterbatasannya untuk menghitung jumlah sel mikroorganisme dalam kultur yang sekaligus mengandung material lain selain mikroorganisme itu sendiri. Panjang gelombang ini merupakan panjang gelombang yang optimal dalam membaca densitas dan suspensi suatu bakteri maupun ragi.

Hasil pengukuran kerapatan optis ditunjukkan pada Gambar 1. Pada gambar tersebut teramati adanya fase lag (adaptasi) yang terlihat pada jam ke-0 hingga jam ke-24. Fase adaptasi ini merupakan fase dimana kecepatan pertumbuhan sel cenderung lambat. Kemudian diikuti oleh fase log (eksponensial) dimana pada fase ini sel ragi mengalami pertumbuhan yang cepat sehingga pada

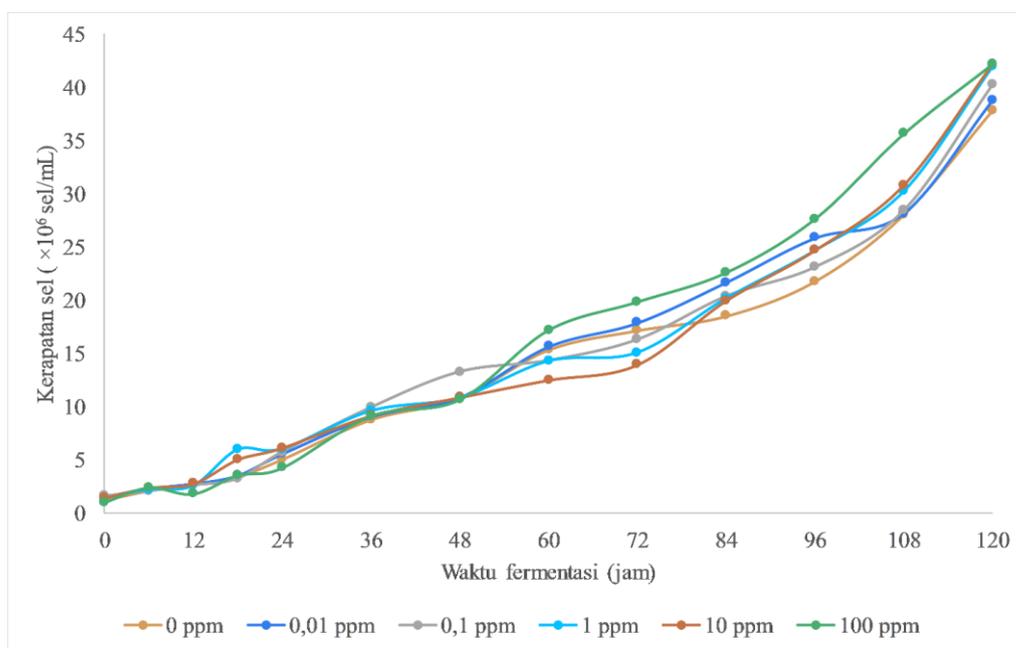
kurva pertumbuhannya terjadi peningkatan jumlah sel dengan cepat seperti ditunjukkan pada jam ke-24 hingga jam ke-72. Terakhir, teramati adanya fase stasioner yaitu fase yang seimbang antara laju pertumbuhan dengan laju kematian, sehingga jumlah total sel ragi akan tetap. Fase ini terjadi pada jam ke-72 hingga ke-120. Pada penentuan kurva pertumbuhan dengan pengukuran densitas optik, tidak teramati adanya fase kematian karena spektrofotometer tidak dapat membedakan sel yang masih hidup dan yang sudah mati.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan nilai OD_{600nm} sel pada media kontrol pada akhir fermentasi (120 jam) yaitu sebesar 0,399, sementara nilai OD_{600nm} sel yang disuplementasi dengan 0,01; 0,1; 1; 10 dan 100 ppm Fe^{2+} masing-masing sebesar 0,464; 0,456; 0,465; 0,476 dan 0,678. Nilai OD_{600nm} sel yang ditumbuhkan pada media yang mengandung 100 ppm Fe^{2+} sebesar 0,678 merupakan nilai OD_{600nm} yang paling tinggi diantara konsentrasi yang lainnya. Semakin tinggi nilai absorbansi OD_{600nm} menunjukkan pertumbuhan sel yang semakin tinggi pula, sehingga hasil ini menunjukkan bahwa media yang disuplementasi dengan 100 ppm Fe^{2+} pertumbuhannya lebih baik dibandingkan dengan kontrol dan variasi lainnya. Hal ini dikarenakan pertumbuhan sel ragi tergantung pada nutrisi yang diberikan pada media pertumbuhannya. Fe^{2+} merupakan salah satu ion logam yang menjadi nutrisi penting yang di butuhkan dalam media fermentasi karena Fe^{2+} berfungsi sebagai kofaktor enzim dalam berbagai proses metabolisme dalam sel (Shakoury-Elizeh et al., 2010). Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Du et al. (2012) yang menunjukkan bahwa ion logam besi dengan konsentrasi 0,5; 1; 3 dan 5 mM (0,02; 0,06; 0,17; dan 0,28 ppm) dapat meningkatkan

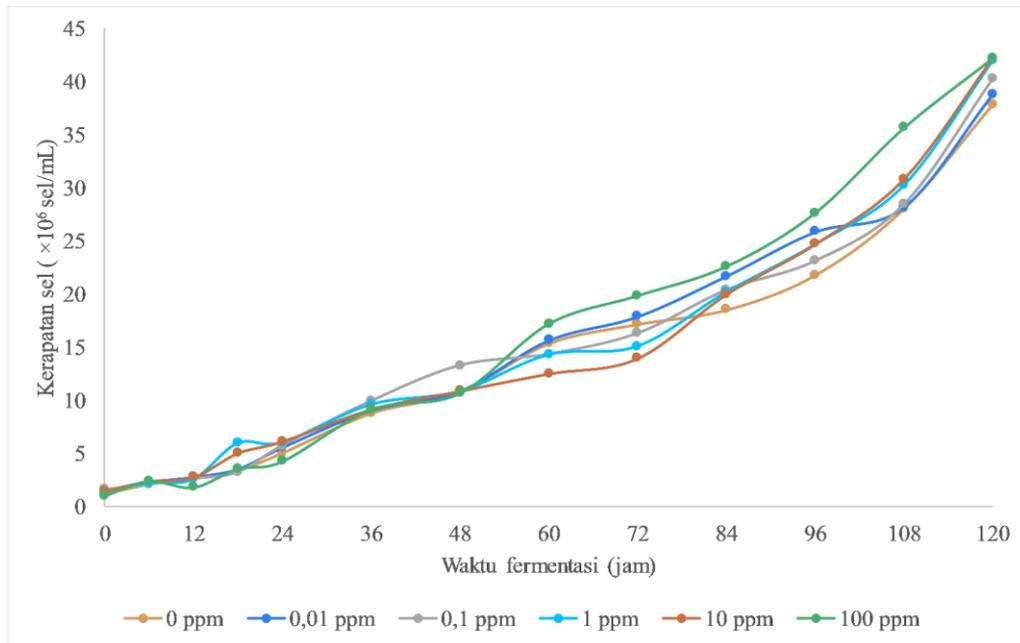
pertumbuhan sel ragi dengan fermentasi selama 8 jam. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Gaensly et al. (2014) suplementasi 15 – 25 mg/L ion logam besi akan meningkatkan pertumbuhan sel ragi.

Hasil penentuan kerapatan sel pada penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 2. Data kerapatan sel menunjukkan pada jam ke-120 jumlah total sel tanpa suplementasi ion logam besi sebesar $37,8 \times 10^6$ sel/mL sementara jumlah total sel yang disuplementasi Fe^{2+} dengan konsentrasi 0,01; 0,1; 1; 10 dan 100 ppm memiliki kerapatan sel berturut-turut sebesar $38,8 \times 10^6$; $40,2 \times 10^6$; $42,0 \times 10^6$; $42,2 \times 10^6$ dan $42,2 \times 10^6$ sel/mL. Sel yang ditumbuhkan pada media dengan 10 dan 100 ppm menunjukkan jumlah total sel yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi yang lainnya. Semakin tinggi konsentrasi ion Fe^{2+} yang ditambahkan pada media, pertumbuhan sel yang semakin meningkat pula. Demikian juga dengan jumlah total sel pada akhir fermentasi yaitu jam ke-120 menunjukkan bahwa media yang disuplementasi dengan Fe^{2+} pertumbuhannya lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan variasi lainnya. Hal ini sesuai dengan data OD_{600nm} yang menunjukkan sel yang ditumbuhkan pada media dengan suplementasi 100 ppm ion besi memiliki jumlah sel paling tinggi.

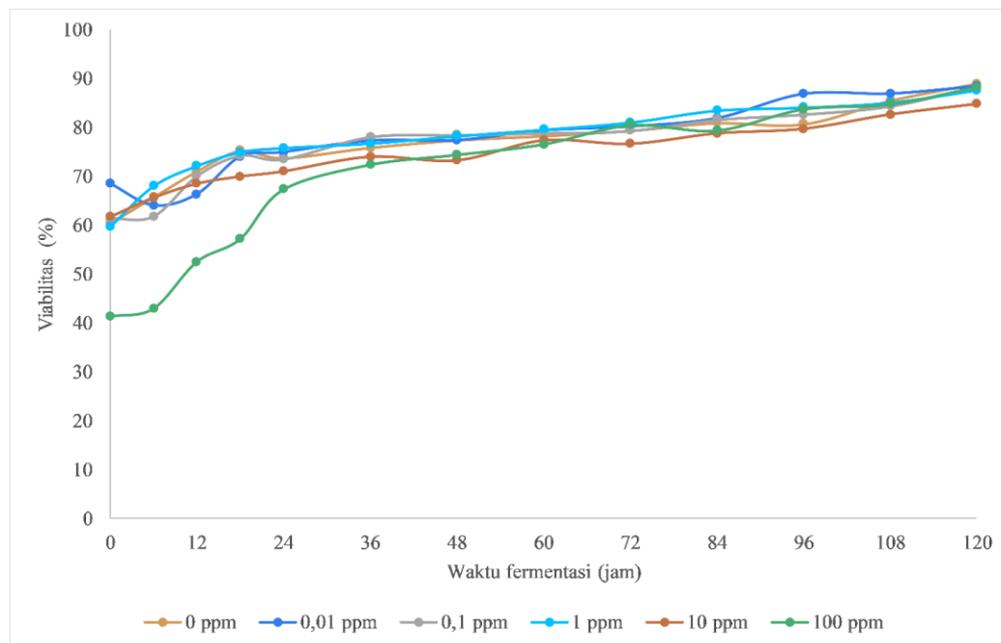
Viabilitas sel ditentukan untuk melihat pengaruh suplementasi Fe^{2+} terhadap jumlah sel hidup. Viabilitas sel dianggap sebagai parameter penting untuk menentukan kinerja fermentasi. Kultur ragi dengan viabilitas yang tinggi diharapkan memiliki kinerja fermentasi yang lebih baik karena jumlah sel aktifnya yang lebih tinggi (Ishmayana et al., 2017). Pada hasil penelitian ini diperoleh persentase viabilitas sel ragi yang ditunjukkan pada Gambar 3. Suplementasi dengan Fe^{2+}



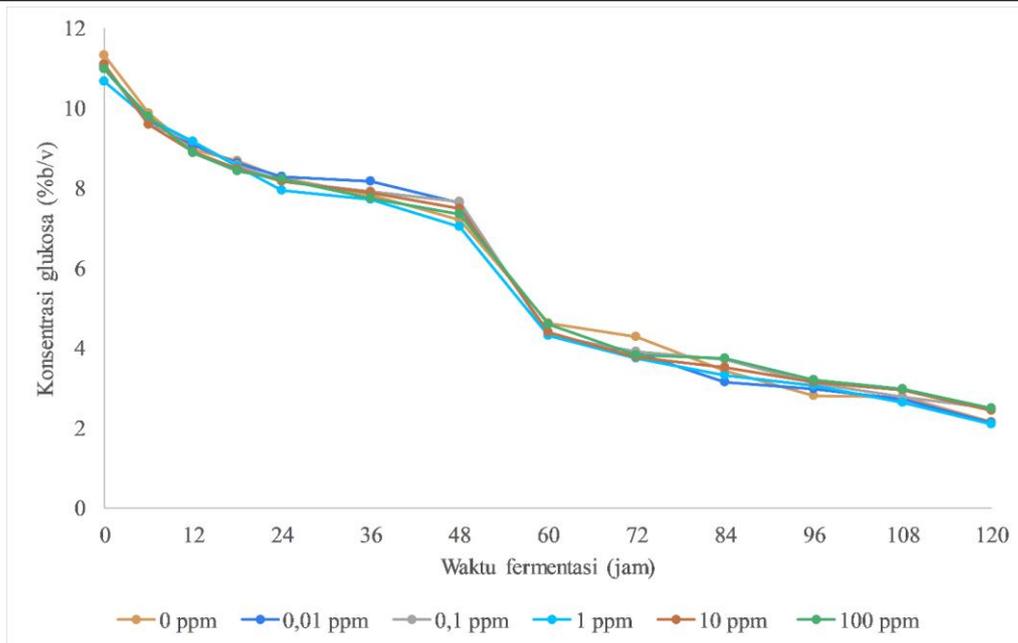
Gambar 2. Jumlah total sel *S. cerevisiae* pada media YNB dengan 10% b/v glukosa dengan variasi konsentrasi Fe^{2+} 0 ppm ; 0,01 ppm ; 0,1 ppm ; 1 ppm ; 10 ppm dan 100 ppm.



Gambar 2. Jumlah total sel *S. cerevisiae* pada media YNB dengan 10% b/v glukosa dengan variasi konsentrasi Fe²⁺ 0 ppm ; 0,01 ppm ; 0,1 ppm ; 1 ppm ; 10 ppm dan 100 ppm.



Gambar 3. Viabilitas sel *S. cerevisiae* pada media YNB dengan 10% b/v glukosa dengan variasi konsentrasi Fe²⁺ 0 ppm ; 0,01 ppm ; 0,1 ppm ; 1 ppm ; 10 ppm ; 100 ppm.

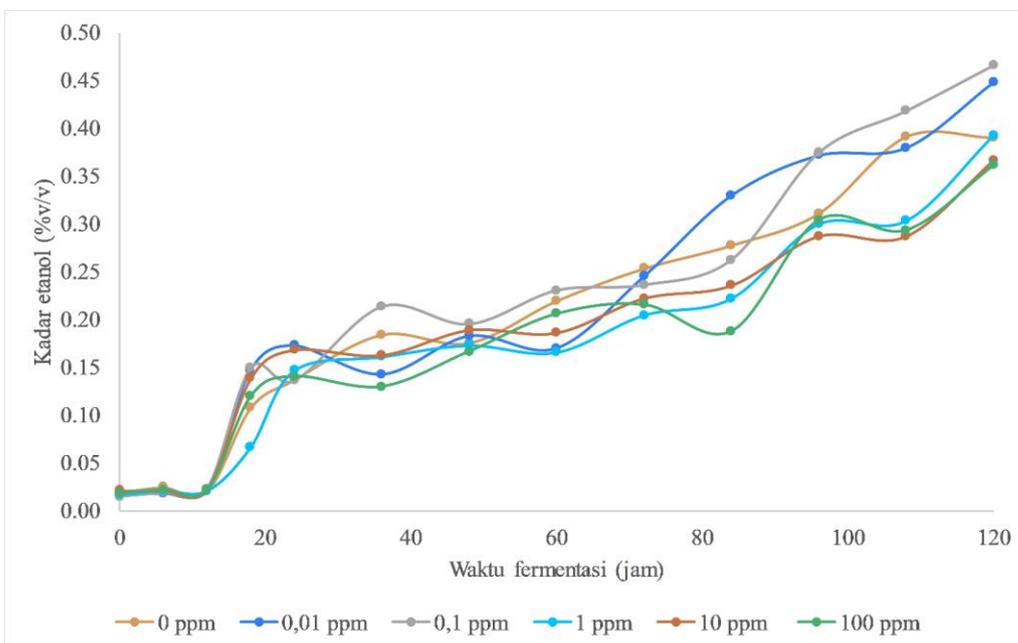


Gambar 4. Konsumsi glukosa oleh *S. cerevisiae* pada media YNB dengan 10% b/v glukosa dan variasi Fe²⁺ 0 ppm ; 0,01 ppm ; 0,1 ppm ; 1 ppm ; 10 ppm dan 100 ppm

Pengaruh Suplementasi Ion Besi (II) Terhadap Kinetika Fermentasi

tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap viabilitas sel. Kenaikan viabilitas yang signifikan teramati pada sel yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan 100 ppm Fe²⁺, sedangkan pada variasi konsentrasi lain tidak teramati adanya perbedaan yang signifikan. Pada akhir fermentasi pun, semua kultur sel ragi memiliki tingkat viabilitas yang tidak berbeda secara signifikan yaitu sekitar 85-89%.

Pada awal proses fermentasi sekitar 10% glukosa ditambahkan ke dalam media yang akan dikonversi menjadi etanol oleh ragi. Selama proses fermentasi, kadar glukosa akan menurun seiring dengan bertambahnya kadar etanol yang terbentuk di dalam media. Hasil dari penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 4 yang merupakan laju konsumsi glukosa oleh sel ragi. Kandungan glukosa akan semakin menurun dengan semakin lamanya proses fermentasi karena sel ragi



Gambar 5. Produksi etanol oleh *S. cerevisiae* pada media YNB dengan 10% b/v glukosa dengan variasi konsentrasi Fe²⁺ 0 ppm ; 0,01 ppm ; 0,1 ppm ; 1 ppm ; 10 ppm dan 100 ppm.

Tabel 2. Parameter kinetika fermentasi ragi dalam media YNB dengan dan tanpa suplementasi Fe²⁺. Data merupakan rata-rata hasil tiga kali eksperimen.

Konsentrasi Fe ²⁺ (ppm)	μ_{max} (jam ⁻¹)	Qs (mg/mL.jam)	Qp (mg/mL.jam)	Y _{p/s} (mg/mg)
0	0,195 ± 0,064 ^a	0,745 ± 0,060 ^a	0,024 ± 0,003 ^{ab}	0,032 ± 0,003 ^a
0,01	0,244 ± 0,068 ^a	0,745 ± 0,047 ^a	0,027 ± 0,001 ^a	0,038 ± 0,001 ^a
0,1	0,165 ± 0,059 ^a	0,714 ± 0,062 ^a	0,027 ± 0,002 ^a	0,041 ± 0,007 ^a
1	0,202 ± 0,084 ^a	0,728 ± 0,047 ^a	0,022 ± 0,003 ^b	0,035 ± 0,006 ^a
10	0,196 ± 0,027 ^a	0,709 ± 0,092 ^a	0,020 ± 0,003 ^b	0,032 ± 0,004 ^a
100	0,141 ± 0,077 ^a	0,700 ± 0,082 ^a	0,020 ± 0,004 ^b	0,033 ± 0,010 ^a

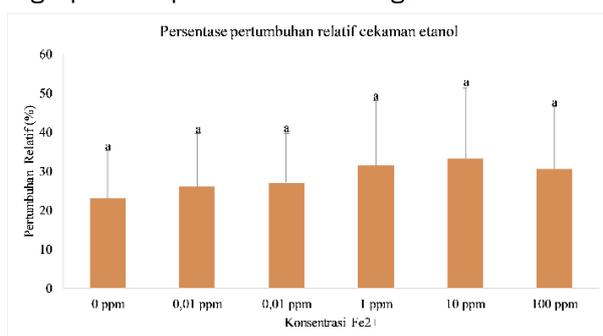
membutuhkan gula untuk tumbuh dan aktivitasnya. Hal ini juga sesuai dengan kurva pertumbuhan yang di dapatkan yakni, semakin banyaknya sel sehingga kandungan glukosa juga semakin menurun. Namun laju konsumsi glukosa dengan suplementasi Fe²⁺ tidak memberikan perbedaan yang signifikan dengan kontrol.

Gambar 4 menunjukkan kandungan glukosa yang semakin menurun seiring dengan berjalannya waktu fermentasi, tetapi pada Gambar 5, yang menunjukkan grafik produksi etanol, dapat dilihat bahwa grafiknya relatif meningkat, meskipun secara stoikiometri jumlah etanol yang dihasilkan tidak sebanding dengan jumlah glukosa yang berkurang. Hal ini menunjukkan bahwa glukosa yang berkurang selama proses fermentasi tidak semuanya diubah menjadi etanol dikarenakan sebagian glukosa yang digunakan untuk memperbanyak jumlah sel dan adanya kemungkinan hilangnya etanol karena penguapan. Suplementasi ion logam Fe²⁺ tidak

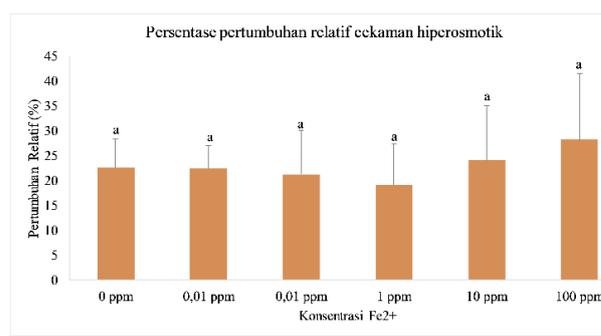
memberikan pengaruh yang signifikan terhadap etanol yang dihasilkan.

Pertumbuhan Sel dan Kinetika Fermentasi

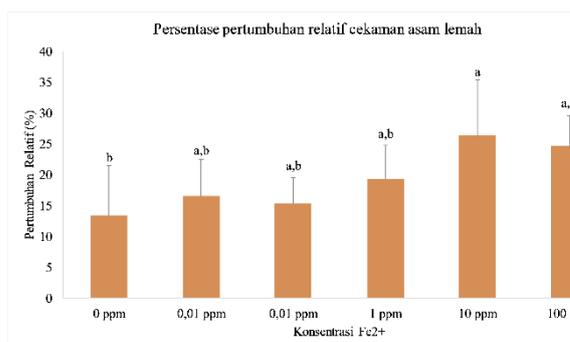
Pada penelitian ini dilakukan analisis kinetika fermentasi meliputi empat parameter penilaian, yaitu μ_{max} yang merupakan nilai laju pertumbuhan sel; Qs yang merupakan nilai laju konsumsi glukosa; Qp yang merupakan nilai laju pembentukan produk berupa etanol; dan Y_{p/s} yang merupakan efisiensi pembentukan etanol yang merupakan rasio konsentrasi etanol yang dihasilkan terhadap konsentrasi glukosa yang dikonsumsi selama fermentasi. Empat parameter kinetika disajikan pada Tabel 2. Hasil analisis menunjukkan bahwa dari keempat nilai p hanya laju produksi etanol yang memiliki nilai P ≤ 0,05 hal ini dapat diartikan bahwa suplementasi ion logam besi memberikan pengaruh terhadap laju produksi etanol.



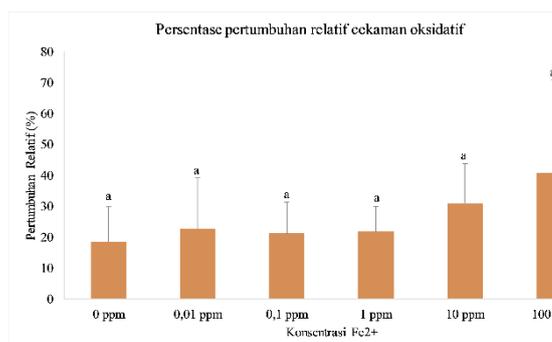
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 6. Pertumbuhan relatif sel ragi *S. cerevisiae* yang ditumbuhkan pada media dengan cekaman (a) etanol 7% v/v, (b) hiperosmotik (27% b/v sorbitol), (c) asam lemah (67 mM asam asetat) dan (d) oksidatif (4 mM H₂O₂). Data yang ditampilkan merupakan rata-rata dari tiga eksperimen dan error bar menunjukkan simpangan baku.

Pengaruh Suplementasi Ion Logam Besi (II) terhadap Toleransi *S. cerevisiae* saat Terpapar Cekaman Lingkungan

Etanol merupakan produk utama yang dihasilkan pada proses fermentasi, namun konsentrasi etanol yang berlebih dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel. Selain itu terdapat efek lain yang disebabkan oleh konsentrasi etanol yang berlebih yaitu menghambat konsumsi glukosa, penyerapan asam amino, pengurangan aktivitas enzim glikolitik, dan kerusakan pada membran sel terutama membran plasma (Auesukaree, 2017). Saat sel ragi terpapar stres maka sel ragi akan merespon dengan melakukan pemrograman ulang terhadap aktivitas selular supaya sel dapat bertahan pada kondisi cekaman, melindungi komponen esensial sel, dan memungkinkan dimulainya kembali aktivitas selular selama proses pemulihan (Stanley, et al., 2010).

Hasil eksperimen pengaruh suplementasi ion logam Fe^{2+} terhadap toleransi sel ragi terhadap etanol ditunjukkan pada Gambar 6. Suplementasi Fe^{2+} tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap toleransi sel ragi terhadap cekaman etanol, hiperosmotik dan oksidatif ($p > 0,05$). Suplementasi dengan 10 ppm Fe^{2+} menunjukkan peningkatan toleransi terhadap asam asetat yang cukup signifikan, namun variasi konsentrasi lainnya tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan ion logam Fe^{2+} yang berlebih justru dapat menurunkan kemampuan sel ragi untuk beradaptasi terhadap cekaman lingkungan, terutama asam lemah. Namun, secara umum ion logam Fe^{2+} tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kemampuan galur sel ragi yang digunakan pada penelitian ini untuk meningkatkan adaptasi terhadap cekaman lingkungan.

Kesimpulan

Suplementasi ion logam Fe^{2+} hanya memberikan pengaruh yang signifikan terhadap laju produksi etanol. Jika jumlah ion logam besi terlalu banyak, maka laju produksi etanol berkurang. Suplementasi ion logam besi tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap daya tahan sel ragi terhadap cekaman etanol, hiperosmotik dan oksidatif. Efek peningkatan toleransi terhadap cekaman asam lemah teramati pada suplementasi 10 ppm ion logam Fe^{2+} .

Daftar Pustaka

- Auesukaree, C., 2017. Molecular mechanisms of the yeast adaptive response and tolerance to stresses encountered during ethanol fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **124 (2)**: 133-142.
- Azhar, S. H. M., Abdulla, R., Jambo, S. A., Marbawi, H., Gansau, J. A., Faik, A. A. M., & Rodrigues, K. F., 2017. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*. **10**: 52-61.
- Ding, J., Huang, X., Zhang, L., Zhao, N., Yang, D., & Zhang, K., 2009. Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **85 (2)**: 253-263.
- Du, Y., Cheng, W., & Li, W.-F., 2012. Expression profiling reveals an unexpected growth-stimulating effect of surplus iron on the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecules and Cells*. **34 (2)**: 127-132.
- Fakruddin, M., Islam, M. A., Ahmed, M. M., & Chowdhury, N., 2013. Process optimization of bioethanol production by stress tolerant yeasts isolated from agro-industrial waste. *International Journal of Renewable and Sustainable Energy*. **2 (4)**: 133-139.
- Gaensly, F., Picheth, G., Brand, D., & Bonfim, T., 2014. The uptake of different iron salts by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Microbiology*. **45 (2)**: 491-494.
- Giannattasio, S., Guaragnella, N., Corte-Real, M., Passarella, S., & Marra, E., 2005. Acid stress adaptation protects *Saccharomyces cerevisiae* from acetic acid-induced programmed cell death. *Gene*. **354**: 93-98.
- Ishmayana, S., Kennedy, U. J., & Learmonth, R. P., 2017. Further investigation of relationships between membrane fluidity and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. **33 (12)**: 218.
- Ishmayana, S., Learmonth, R. P., & Kennedy, U. J., 2011. Fermentation performance of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in media with high sugar concentration, The 2nd International Seminar on Chemistry 2011, Jatinangor, 24-25 November 2011, Department of Chemistry, Universitas Padjadjaran: Jatinangor, pp. 379-385.
- Li, L., & Ward, D. M., 2018. Iron toxicity in yeast: transcriptional regulation of the vacuolar iron importer Ccc1. *Current Genetics*. **64 (2)**: 413-416.
- Moeksin, R., & Francisca, S., 2010. Pembuatan etanol dari bengkuang dengan variasi berat ragi, waktu, dan jenis ragi. *Jurnal Teknik Kimia*. **17 (2)**: 25-30.
- Rachman, S. D., Hidayat, R. W., Safari, A., & Ishmayana, S., 2018. A comparison of the fermentation performance and stress tolerance of baker's yeast cells grown in media with or without magnesium addition. *Research Journal of Chemistry and Environment*. **22 (Special Issue 2)**: 124-128.
- Rachman, S. D., Maulida, N., Safari, A., Anggraeni, N. I., Fadhlillah, M., & Ishmayana, S., 2019. Peranan Ion Logam Kobalt Terhadap Kinerja Fermentasi dan Toleransi Cekaman Lingkungan Sel Ragi *Saccharomyces cerevisiae*. *Chimica et Natura Acta*. **7 (3)**: 114-124.
- Riles, L., & Fay, J. C., 2019. Genetic basis of variation in heat and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. **9 (1)**: 179-188.
- Shafiee, S., & Topal, E., 2009. When will fossil fuel reserves be diminished? *Energy Policy*. **37 (1)**: 181-189.

-
- Shakoury-Elizeh, M., Protchenko, O., Berger, A., Cox, J., Gable, K., Dunn, T. M., Prinz, W. A., Bard, M., & Philpott, C. C., 2010. Metabolic response to iron deficiency in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Chemistry*. **285 (19)**: 14823-14833.
- Stanley, D., Bandara, A., Fraser, S., Chambers, P., & Stanley, G. A., 2010. The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Applied Microbiology*. **109 (1)**: 13-24.
- Syauqi, A., 2017. Penentuan kuantitas sel *Saccharomyces cerevisiae* dengan turbidimetri. *Biosaintropis*. **2 (2)**: 1-9.
- Xue, C., Zhao, X.-Q., Yuan, W.-J., & Bai, F.-W., 2008. Improving ethanol tolerance of a self-flocculating yeast by optimization of medium composition. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. **24**: 2257-2261.