PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

KHAMIR ASAL SERANGGA SEBAGAI AGEN PENGHASIL BIOETHANOL

JENIS KEGIATAN:

PKM Penulisan Ilmiah

Diusulkan oleh:

Ketua	:	Dorkas Elisabeth	G34051062 / 2005
Anggota	:	Cipta Edward	G34050260 / 2005
		Teti Mardyatul Khibtiah	G34050935 / 2005
		Amaryllis Anindyaputri	G34050939 / 2005
		Rio Adhitya Reginaldi	G34060045 / 2006

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

BOGOR

2008

LEMBAR PENGESAHAN PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

1.Judul kegiatan : Khamir Asal Serangga Sebagai Agen Penghasil Bioethanol

2. Bidang ilmu : MIPA

3. Ketua Pelaksana Kegiatan / Penulis Utama
   - a. Nama Lengkap : Dorkas Elisabeth
   - b. NIM : G 34051062
   - c. Jurusan : Biologi
   - d. Institut / Universitas / Politeknik : Institut Pertanian Bogor
   - e. Alamat Rumah dan No HP : Rumah Kost Asyita Graha 3 Jalan Perwira nomor 44 Darmaga Bogor 16680. No HP 081808233565
   - f. Alamat email : lizzabeth_cha@yahoo.co.id

4. Anggota Pelaksana Kegiatan / Penulis : 4 orang

5. Dosen Pendamping
   - a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr.Ir. Gayuh Rahayu
   - b. NIP : 131 289 335
   - c. Alamat Rumah dan No HP : BIP D3/08, Telaga Kahuripan Bogor. No HP 08161133725

Bogor, 10 Maret 2008

Menyetujui,
Ketua Departemen

(Prof.Dr.Ir. Alex Hartana)
NIP. 131 516 351

Ketua Pelaksana Kegiatan

(Dorkas Elisabeth)
NIM. G 3405 1062

Wakil Rektor Bidang
Akademik dan Kemahasiswaan,

Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 131 473 999

Dosen Pendamping

(Dr.Ir. Gayuh Rahayu)
NIP.131 289 335

LEMBAR PENGESAHAN SUMBER PENULISAN ILMIAH PKMI

1. Judul Tulisan yang Diajukan : Khamir Asal Serangga Sebagai Agen Penghasil Bioethanol

2. Sumber Penulisan
   (X) Kegiatan Studi Lapangan Departemen Biologi FMIPA IPB 2007 di Wana Wisata Cangkuang, Sukabumi.
   Yoan Ramasita. Cipta Edward E S. Sang Ayu Putu L A. 2007. Khamir Pada Serangga di Wana Wisata Cangkuang, Sukabumi.

Keterangan ini kami buat dengan sebenarnya.

Mengetahui,
Ketua Departemen,

(Prof. Dr. Alex Hartana, M.Sc)
NIP.130516351

Bogor, 10 Maret 2008
Penulis Utama,

(Dorkas Elisabeth)
NIM. G34051062

KHAMIR ASAL SERANGGA SEBAGAI AGEN PENGHASIL BIOETHANOL

Dorkas Elisabeth, Cipta Edward, Teti Mardyatul, Amaryllis Anindyaputri, dan Rio Adhitya Reginaldi
Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Khamir merupakan organisme yang mampu melakukan fermentasi terhadap gula sederhana menjadi CO_2 dan ethanol. Tujuan kegiatan ini adalah mengisolasi khamir asal serangga yang berpotensi sebagai agen penghasil bioethanol. Khamir diperoleh dari permukaan tubuh delapan ekor serangga dan dari saluran pencernaan lima ekor serangga. Kemampuan fermentasi dari isolat khamir diuji terhadap empat jenis gula, yaitu glukosa, laktosa, sukrosa, soluble starch. Semakin kompleks sumber karbon semakin sedikit isolat yang mampu mengubahnya menjadi asam atau yang mampu membentuk gas. Isolat yang mampu melakukan fermentasi terhadap soluble starch adalah isolat 12 asal permukaan tubuh serangga dan menghasilkan gas yang menjadi indikator produksi ethanol. Ethanol yang dihasilkan dapat digunakan sebagai bahan bakar alternatif untuk kendaraan bermotor atau yang dikenal dengan bioethanol sehingga dapat mengurangi emisi gas CO_2.

Kata Kunci : khamir, bioethanol, serangga, *soluble starch*

PENDAHULUAN

Khamir adalah organisme uniseluler yang dapar digolongkan ke dalam tiga kelompok besar yaitu khamir askomiset, khamir basidiomiset dan khamir imperfekti. Khamir bereproduksi secara aseksual dengan tunas atau membelah diri. Sedangkan reproduksi seksualnya dengan pembentukan spora. Sel khamir biasanya berbentuk oval atau bulat seperti telur, sosis, dan lemon. Ukuran sel khamir sangat bervariasi. Pada umumnya panjang berkisar antara 5-30 µm dan lebar berkisar antara 1-5 µm (Pelczar dan Reid 1958).

Khamir hidup pada habitat yang cukup luas. Khamir dapat hidup di tanah, permukaan dan bagian tanaman (seperti buah-buahan dan dedaunan), serta pada insekta. Pada kegiatan ini, khamir diisolasi dari serangga yang ada di Wana Wisata Cangkuang.

Serangga-serangga di hutan alam Wana Wisata Cangkuang terdiri dari kupu-kupu, belalang, tawon, kumbang, dan capung. Serangga-serangga ini diduga terkontaminasi khamir yang hidup di permukaan luar tubuh dan saluran pencernaan serangga. Menurut Morais *et al.* (1992) spesies-spesies khamir yang berasosiasi dengan serangga dan variasinya bergantung dari jenis makanannya.

Khamir memiliki peranan penting dalam industri, khususnya industri pangan. Khamir mampu melakukan proses fermentasi dan khamir mempunyai sifat pereduksi yang kuat. Bila suatu media mengandung zat gula dan khamir dalam kondisi fermentatif aktif, maka berbagai zat lain yang ditambahkan dapat pula tereduksi.

Khamir-khamir yang mampu melakukan fermentasi sumber karbon yang kompleks seperti pati dan selulosa akan dimanfaatkan dalam produksi ethanol Ethanol bisa digunakan dalam bentuk murni ataupun sebagai campuran untuk bahan bakar gasolin (bensin) maupun hidrogen. Interaksi ethanol dengan hidrogen bisa dimanfaatkan sebagai sumber energi *fuel cell* ataupun dalam mesin pembakaran dalam (*internal combustion engine*) konvensional. Ethanol yang secara teoritik memiliki angka oktan di atas standar maksimal bensin, cocok diterapkan sebagai substitusi sebagian ataupun keseluruhan pada mesin bensin (Marris 2006).

Khamir pada kondisi anaerob memperoleh energi dengan mengubah asam piruvat hasil glikolisis menjadi CO_2 dan etanol. (Pelczar dan Chan 2006). Ethanol adalah bahan kimia yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Khamir asal serangga yang mampu melakukan fermentasi masih belum banyak diteliti. Potensi khamir asal serangga sebagai agen penghasil bioethanol penting untuk digali lebih lanjut. Hingga pada akhirnya dapat meningkatkan efisiensi dalam menghasilkan ethanol yang berpotensi menjadi bioethanol.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada kegiatan ini berasal dari hasil isolasi khamir pada serangga, bromtimol biru, media GPY, media dasar uji fermentasi dengan empat sumber karbon yaitu glukosa, sukrosa, laktosa, dan *soluble starch*.

Pengambilan Contoh

Pengambilan contoh dilakukan di Wana Wisata Cangkuang, Sukabumi pada 11-12 Juli 2007. Isolasi khamir dilakukan di Laboratorium Mikologi dan Zoologi Departemen Biologi, IPB.

Isolasi Khamir

Khamir diisolasi dari permukaan tubuh dan saluran pencernaan serangga. Serangga yang masih hidup dimasukkan ke dalam cawan yang berisi media GPY, dan dibiarkan beberapa saat. Kemudian serangga dikeluarkan dari cawan dan dibawa ke laboratorium Zoologi untuk diambil saluran pencernaannya.

Tubuh serangga dibedah dengan menggunakan *cutter* steril. Kemudian saluran pencernaan diambil dengan pinset steril. Sedikit isi saluran pencernaan diambil dengan jarum inokulasi dan digoreskan ke media GPY cawan.

Cawan-cawan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama kurang lebih dua hari. Setiap koloni khamir yang menunjukkan penampakan berbeda dan dari setiap serangga yang berbeda diisolasi pada media GPY cawan hingga diperoleh biakan murni. Biakan murni dipelihara dalam agar miring GPY sebagai kultur stok, sedangkan biakan agar cawan yang berumur 48 jam digunakan untuk kultur kerja. Media GPY digunakan sebagai sumber inokulum dalam pengamatan morfologi dan uji fermentasi.

Uji Fermentasi

Kemampuan fermentasi khamir-khamir ini diuji terhadap beberapa sumber karbon yaitu glukosa, sukrosa, laktosa dan *soluble starch*. Media dasar fermentasi ditambah sebanyak 2% sumber karbon. Kemudian ke dalam media ini ditambahkan larutan bromtimol biru sebanyak 4 ml setiap 100 ml media fermentasi. Sebanyak 5 ml media fermentasi ini dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung *Durham* dalam posisi terbalik kemudian disumbat dan disterilisasi.

Setelah media dingin, sebanyak tiga lup khamir dinokulasikan ke dalam media fermentasi steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama tujuh hari.

Kemampuan fermentasi diamati berdasarkan perubahan warna bromtimol biru dan pembentukan gas pada tabung *Durham*. Isolat-isolat yang menunjukkan produksi gas adalah isolat-isolat yang berpotensi sebagai penghasil ethanol.

HASIL

Isolasi Khamir

Sebanyak 22 ekor serangga berhasil ditangkap dari hutan alami Wana Wisata Cangkuang.yang terdiri dari sebelas ekor Lepidoptera, sepuluh ekor Odonata, dan satu ekor Coleoptera. Khamir diisolasi dari permukaan tubuh semua serangga yang diperoleh. Sedangkan dari saluran pencernaannya, hanya 18 ekor serangga yang dapat dijadikan sumber khamir karena sisanya rusak. Sebanyak 13 ekor serangga (4 Lepidoptera, 9 Odonata) membawa khamir sedangkan 9 ekor lainnya (7 Lepidoptera, 1 Odonata, dan 1 Coleoptera) tidak membawa khamir.

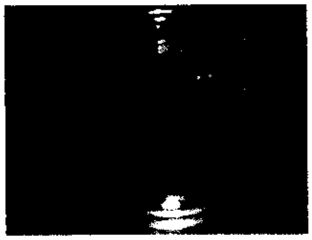
Dari 13 ekor serangga, 8 ekor (3 Lepidoptera, dan 5 Odonata) membawa khamir di permukaan tubuhnya dan 5 ekor (1 Lepidoptera dan 4 Odonata) membawa khamir pada saluran pencernaannya (Tabel 1).

Tabel 1 Serangga dan isolat khamir

Identitas Serangga		Asal Khamir		Identitas Serangga		Asal Khamir	
		Permukaan Tubuh	Saluran Pencernaan			Permukaan Tubuh	Saluran Pencernaan
LEPIDOPTERA	1	+ (1)	K	ODONATA	1	-	+ (5)
	2	-	K		2	-	+ (6)
	3	+ (2)	K		3	-	+ (7)
	4	+ (3)	-		4	-	+ (8)
	5	-	K		5	-	K
	6	-	+ (4)		6	+ (9)	-
	7	-	-		7	+ (10)	K
	8	-	K		8	+ (11)	-
	9	-	K		9	+ (12)	K
	10	-	-		10	+ (13)	-
	11	-	-	COLEOPTERA		-	-

Keterangan:

+ = ada; - = tidak ada; (1,2,3,...) = no isolat; K = tidak dibedah karena serangga rusak



Gambar 1 Contoh serangga dari ordo Odonata sebagai sumber khamir

Gambar 2 Contoh isolat khamir pada cawan I

Tabel 2 Hasil uji fermentasi

Kel.	No Isolat	Fermentasi							
		Glukosa		Sukrosa		Laktosa		*Soluble starch*	
		Warna	Gas	Warna	Gas	Warna	Gas	Warna	Gas
1	1	+++	T	+++	T	+++	T	++	T
2	2	+++	C	+++	C	+++	C	+++	T
	7	++++	C	+++	T	+++	T	-	T
3	3	+++	C	+++	T	++	T	++	T
	11	+++	C	+++	T	+	T	+++	T
4	4	+++	T	+++	C	+++	T	-	T
	10	+++	T	+++	T	++	T	++	T
	12	+++	C	+++	T	++	T	++	C
5	5	+++	C	+++	T	++	T	++	T
	13	+++	T	+++	T	+++	T	++	T
6	6	+++	T	+++	T	+++	T	++	T
7	8	+++	T	+++	T	+++	T	++	T
8	9	+++	L	+++	T	+++	T	++	T

Keterangan :

Perubahan warna ditetapkan dengan standar skor sebagai berikut:

+++++ = 100% berubah warna

++++ = 75-95% berubah warna

+++ = 45-65% berubah warna

++ = 25-35% berubah warna

+ = 15% berubah warna

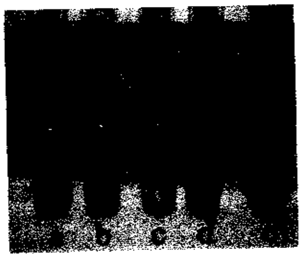
- = tidak ada perubahan warna

Sedangkan pembentukan gas dinyatakan dalam kriteria sebagai berikut:

C = terbentuk banyak gas dalam waktu tujuh hari

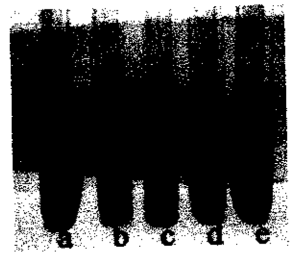
L = terbentuk gas dengan cepat setelah tujuh hari

T = tidak terbentuk gas



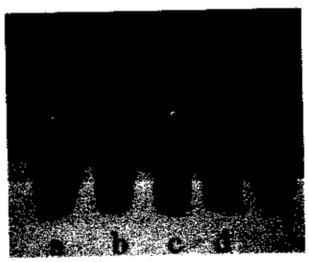
Glukosa

Keterangan : (a) isolat 2
(b) isolat 3
(c) isolat 5
(d) isolat 7
(e) kontrol



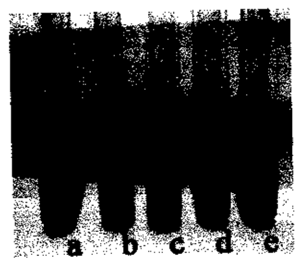
Laktosa

(a) isolat 10
(b) isolat 5
(c) isolat 3
(d) isolat 8
(e) kontrol



Sukrosa

Keterangan : (a) isolat 7
(b) isolat 2
(c) isolat 4
(d) isolat 6
(e) kontrol



Soluble starch

(a) isolat 1
(b) isolat 2
(c) isolat 3
(d) isolat 11
(e) kontrol

Gambar 3 Hasil uji fermentasi terhadap empat sumber karbon

PEMBAHASAN

Khamir pada *Drosophilla* sp. dapat diperoleh dari permukaan tubuh dan saluran pencernaannya. Jumlah isolat yang ditemukan pada permukaan tubuh lebih banyak daripada di saluran pencernaan dan variasi jenis khamir yang diperoleh bergantung dari makanannya. Gula dan buah-buahan dengan kandungan gula tinggi merupakan substrat hidup yang baik bagi khamir. Hasil kegiatan ini menunjukan bahwa tidak semua serangga membawa khamir pada permukaan tubuhnya. Hal ini diduga karena serangga tersebut belum pernah mengalami kontak dengan substrat khamir seperti bunga, buah, permukaan daun dan tanah. Selain itu, populasi khamir pada substratnya terlalu rendah ketika serangga tersebut mengadakan kontak (Morais *et al.* 1992). Pada kegiatan ini, serangga yang membawa khamir berasal dari ordo Lepidoptera dan Odonata yang dikenal sebagai serangga penyerbuk. Untuk mengetahui tingkat kemampuan khamir dalam melakukan fermentasi, maka dilakukan uji fermentasi terhadap empat jenis sumber karbon, yaitu glukosa, sukrosa, laktosa dan *soluble starch.*

Hasil uji menunjukkan terbentuknya gelembung gas yang merupakan hasil aktivitas sel khamir dalam melengkapi NAD^+ dengan mengubah asam piruvat dari glikolisis menjadi CO_2 dan ethanol. Gelembung gas yang terbentuk di dalam tabung *Durham* merupakan kumpulan CO_2 (Campbell 2003). Selain pengamatan gelembung gas, juga dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna pada media. Pewarna yang digunakan adalah bromtimol biru yang berfungsi sebagai indikator tingkat keasaman. Perubahan warna media menjadi kuning menunjukkan larutan bersifat asam dan warna biru menunjukkan media bersifat basa. Gelembung gas yang paling banyak dihasilkan terdapat pada uji dengan sumber karbon berupa glukosa. Uji fermentasi tersebut menunjukkan bahwa khamir lebih banyak menggunakan glukosa atau gula sederhana sebagai sumber karbon, tetapi terdapat satu isolat yang mampu melakukan fermentasi terhadap *soluble starch* atau pati.

Pati atau selulosa merupakan komponen dari kandungan biomassa yang dapat menghasilkan ethanol melalui proses fermentasi oleh khamir. Proses fermentasi tersebut dapat diketahui melalui reaksi berikut :

$$C_6H_{12}O_6 \quad \rightarrow \quad 2\ CH_3CH_2OH + 2\ CO_2$$

(White dan Plaskett 1981)

Pada tahap ini terjadi proses pemecahan gula-gula sederhana menjadi ethanol dengan melibatkan enzim dan ragi. Enzim yang terlibat dalam pemecahan gula sederhana adalah enzim glukosidase. Fermentasi dilakukan pada kisaran suhu 27-32°C. Gas CO_2 yang dihasilkan memiliki perbandingan stoikiometri yang sama dengan ethanol, yaitu 1:1 (Hambali *et al.* 2007). Pada pengamatan fermentasi *soluble starch,* isolat yang berpotensi untuk menghasilkan ethanol adalah isolat nomor 12 yang berasal dari permukaan tubuh serangga.

Berdasarkan pengetahuan sebelumnya, produksi ethanol melalui fermentasi khamir hanya berasal dari pemecahan gula sederhana (White dan Plaskett 1981). Namun kegiatan ini menunjukkan bahwa terdapat khamir yang dapat melakukan fermentasi terhadap pati yang memiliki struktur yang lebih kompleks daripada glukosa, sehingga dapat meningkatkan efisiensi dari fermentasi gula kompleks menjadi ethanol.

Ethanol yang secara teoritik memiliki angka oktan di atas standar maksimal bensin, cocok diterapkan sebagai substitusi sebagian ataupun keseluruhan pada mesin bensin. Dari sisi teknik pembangkitan daya dan emisi gas buang, ethanol (dalam bentuk murni ataupun campuran) relatif superior terhadap gasolin. Penggunaan ethanol sebagai bahan bakar pada mesin pembakaran dalam akan meningkatkan efisiensi mesin, serta menurunkan kadar emisi gas yang berbahaya bagi lingkungan (relatif terhadap gasolin) (Marris 2006).

Dewasa ini, bioethanol merupakan salah satu campuran bahan bakar yang sedang diusahakan oleh pemerintah di seluruh dunia untuk dapat dimanfaatkan sebagai alternatif bahan bakar untuk kendaraan bermotor. Hal ini dilakukan sebagai usaha untuk mengurangi emisi gas karbondioksida (CO_2) yang merupakan salah satu gas utama rumah kaca yang memberi kontribusi terhadap perubahan iklim global. Bahan bakar bioethanol juga dapat menghasilkan pembakaran yang lebih sempurna sehingga dapat membantu mengurangi polusi serta meningkatkan kualitas udara.

KESIMPULAN

Satu isolat (no 12) dari 13 isolat khamir asal serangga penyerbuk memiliki kemampuan dalam mendegradasi pati menjadi ethanol. Kemampuannya dalam mendegradasi pati langsung menjadi ethanol meningkatkan efisiensi produksi bioethanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Yoan Ramasita, Sang Ayu Putu, dan Tahira Tunnisa yang telah membantu dalam kegiatan ini.

DAFTAR PUSTAKA

Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG, Taylor MR. 2003. *Biology: Concept and Connections*. San Fransisco: Pearson Education.

Hambali E *et al.* 2007. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Marris E. 2006. Sugar cane and ethanol: drink the best and drive the rest. *Nature* 444:670-672 [terhubung berkala].

http://www.nature.com/nature/journalv444/n7120/full/444670a.html [8 Mar 2008].
Morais PB, Hagler AL, Rossa CA, Hagler CM. 1992. Yeast associated with *Drosophilla* in tropical forest of Rio de Janeiro, Brazil. *Can J Microbiol* 38:1150-1155.
Pelczar MJ dan Reid R.1958. *Microbiology*. New York: McGraw Hill Book Co.
Pelczar MJ dan Chan ECS. 2006. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
White LP dan Plaskett LG. 1981. *Biomass as Fuel*. London: Academic Pr.