

Potential of thermophilic bacteria to produce bioethanol at variation of incubation pH

Irdawati*, Nur Vaizi, Linda Advinda, Dwi Hilda Putri

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: irdawati.amor40@gmail.com

ABSTRACT. The purpose of this study was to determine the potency and optimum pH of AAS thermophilic bacteria isolates in producing bioethanol. This research was carried out from September 2021 to December 2021, at the Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University. This research is an experimental study consisting of 6 treatments and 3 replications with variations in incubation pH of 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, and 9. The data obtained were analyzed by means of variance (ANOVA) with Duncan's further test. New Multiple Range Test (DNMRT). The results showed that the isolates of thermophilic bacteria SSA had the potential to produce bioethanol with isolates SSA 8 being the producer of bioethanol with the highest concentration of 1.001%, and variations in incubation pH affected the concentration of bioethanol produced with the optimum pH of thermophilic bacteria in producing bioethanol, namely pH 8 which produced the highest concentration of bioethanol is 1.001%.

Keywords: Thermophilic Bacteria, Bioethanol, incubation pH

ABSTRAK. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi serta pH optimum isolat bakteri termofilik SSA dalam menghasilkan bioetanol. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2021 hingga bulan Desember 2021, di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang terdiri dari 6 perlakuan dan 3 ulangan dengan variasi pH inkubasi 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, dan 9. Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) dengan uji lanjut Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri termofilik SSA memiliki potensi dalam menghasilkan bioetanol dengan isolat SSA 8 merupakan penghasil bioetanol dengan kadar tertinggi yaitu 1.001%, dan variasi pH inkubasi berpengaruh terhadap konsentrasi bioetanol yang dihasilkan dengan pH optimum bakteri termofilik dalam menghasilkan bioetanol yaitu pH 8 yang menghasilkan konsentrasi bioetanol tertinggi yaitu 1.001%.

Kata kunci: Bakteri Termofilik, Bioetanol, pH inkubasi



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2022 by author.

1. PENDAHULUAN

Saat ini, pandemi *Coronavirus Disease* (Covid-19) menjadi suatu masalah kesehatan yang paling banyak dibahas di seluruh dunia. Cara penanggulangannya telah banyak dilakukan seperti *lockdown* di berbagai negara yang dilakukan sebagai upaya pencegahan penularan penyakit tersebut (Erviainingsih dkk, 2020). Pemerintah juga menganjurkan agar menjaga kesehatan serta pola hidup sehat, diantaranya dengan menjaga jarak aman, menggunakan masker, mencuci tangan dengan menggunakan *hand sanitizer* ketika melakukan kegiatan di luar ruangan (Oktavia dkk, 2021).

Hand sanitizer merupakan bahan antiseptic cair yang digunakan sebagai alternatif media pencuci tangan yang lebih praktis (Holifah dkk, 2020). Pembuatan *hand sanitizer* dilakukan dengan mengikuti prosedur yang telah ditetapkan oleh WHO dengan bahan baku alkohol, namun ketersediaan bahan baku alkohol mulai langka di pasaran, sehingga diperlukan alternatif pengganti alkohol seperti bioetanol (Adrianton dkk, 2020).

Bioetanol merupakan jenis alkohol yang proses produksinya melalui tahap fermentasi dengan menggunakan mikroba seperti bakteri termofilik (Morris & Armada, 2006). Bakteri termofilik adalah jenis mikroba yang stabil terhadap suhu tinggi yang biasanya dapat dijumpai di alam pada berbagai tempat seperti daerah aktivitas gunung berapi, dasar laut yang memiliki sumber mata air panas serta pada tempat sumber air panas (Irdawati dkk, 2015). Pemanfaatan bakteri termofilik dalam bidang bioteknologi dilakukan karena bakteri termofilik efisien terhadap keadaan suhu tinggi (Novitasari & Nuniek, 2014).

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting yang mampu mempengaruhi proses fermentasi bioetanol karena pH mempengaruhi kondisi pertumbuhan mikroba (Hendrawan dkk, 2017). pH sangat berkaitan dengan keberadaan ion hidrogen. Konsentrasi ion hidrogen sangat mempengaruhi aktivitas enzim, karena enzim aktif apabila asam amino yang merupakan sisi aktif enzim berada dalam keadaan ionisasi tepat. pH terlalu asam atau terlalu basa akan menyebabkan enzim terdenaturasi sehingga enzim tidak aktif (Prima, 2012).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ahmad dkk (2017), mendapatkan hasil bahwa pH yang paling cocok untuk fermentasi bioetanol adalah pH 9 dengan lama fermentasi selama 3 hari, akan menghasilkan bioetanol dengan nilai 4.808 g/L. Ia juga mengatakan bahwa perubahan suhu dan pH adalah faktor terpenting dalam fermentasi bioetanol.

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Weissgram dkk (2015) juga menunjukkan hasil bahwa pH sangat berpengaruh terhadap produksi bioetanol dari bakteri termofilik. Namun responnya berbeda pada setiap isolat yang diujikan, seperti *Thermoanaerobacter ethanolicus* sensitif terhadap penurunan kadar pH dan kenaikan suhu serta memiliki sifat optimum yang terletak jelas pada pH 7, *Thermoanaerobacter mathranii* dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas antara pH 4 dan pH 7, dan *Thermoanaerobacter saccharolyticum* di sisi lain lebih sensitif terhadap suhu dari pada pH, dengan parameter budidaya optimum antara pH 4 hingga pH 7.

Berdasarkan latar belakang yang dirumuskan maka peneliti akan melakukan penelitian tentang "Potensi Bakteri Termofilik dalam Menghasilkan Bioetanol pada Variasi pH Inkubasi"

2. METODE

Pembuatan Medium NA

Bubuk medium NA ditimbang sebanyak 20 g kemudian ditambah *Gellan gum* 3 g, selanjutnya dimasukkan dalam *beaker glass* dan ditambahkan aquades sampai volumenya

menjadi 1000 mL. Campuran tersebut dipanaskan hingga mendidih lalu dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan autoklaf suhu 121°C pada tekanan 15 atm selama 15 menit.

Pembuatan Medium TMM Padat dan TMM Cair

Medium pertumbuhan bakteri termofilik penghasil bioetanol yang digunakan adalah medium TMM (*Thermophilic Minimum Media*) dengan kandungan 0,01% MgSO₄.7H₂O, 0,1% K₂HPO₄, 0,35% (NH₄)₂SO₄, 0,1% NaCl, 0,05% *yeast extract*, 0,05% pepton (Zilda dkk, 2008), kemudian ditambahkan dengan aquades hingga volumenya mencapai 250 ml dalam *erlenmeyer* 500 ml. Medium TMM ditambahkan dengan etanol 4% dan diperkaya dengan glukosa sebanyak 6% sebagai sumber karbon, namun pada media padat ditambahkan dengan agar sebanyak 2%. Selanjutnya medium dipanaskan hingga mendidih, setelah itu disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Martosuyono & Roger, 2005).

Tahap I: Skrining Bakteri Termofilik Isolat SSA Penghasil Bioetanol

Isolat murni SSA diambil sebanyak 1 ml kemudian ditumbuhkan dalam *petridish* yang berisi medium padat TMM, bakteri disebar merata dipermukaan medium padat TMM dengan *spreader* kemudian ditambahkan dengan 4% etanol. Kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 24 jam. Isolat yang memiliki kemampuan memproduksi bioetanol adalah isolat yang dapat tumbuh dalam medium TMM padat tersebut. Selanjutnya isolat yang dapat tumbuh pada medium TMM padat akan difermentasi.

Tahap II: Fermentasi Hasil Skrining dari TMM Padat

Sebanyak 1 ose isolat bakteri SSA dari medium NA diinokulasikan ke dalam *erlenmeyer* 100 ml yang berisi medium fermentasi TMM cair yang telah dibuat sebanyak 50 ml, selanjutnya diinkubasi didalam incubator dengan suhu 60°C selama 24 jam. Kemudian hasil fermentasi diukur kadar bioetanolnya dengan alat destilasi. Isolat yang menghasilkan kadar bioetanol tertinggi akan digunakan untuk tahap selanjutnya.

Tahap III: Produksi Bioetanol pada Variasi pH dengan Metode Fermentasi

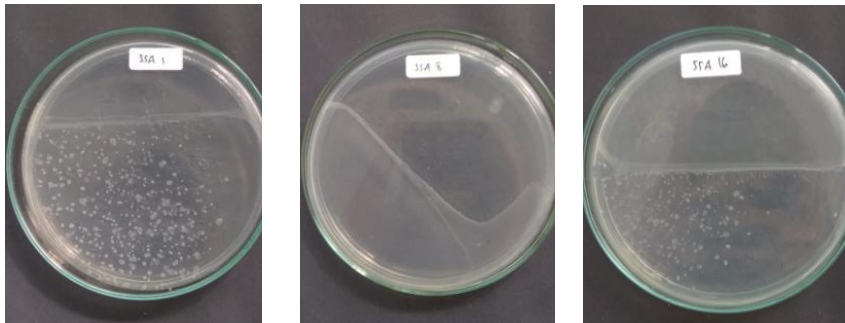
Isolat yang menghasilkan kadar bioetanol paling tinggi pada tahap II difermentasi kembali dengan menggunakan medium TMM cair dengan variasi pH 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, dan 9 secara triplo. Isolat terpilih dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 100 ml yang berisi 50 ml medium TMM cair, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 60°C selama 24 jam. Kemudian hasil fermentasi diukur kadar etanolnya untuk mengetahui pH yang optimum dengan metode destilasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi atau Skrining Bakteri Termofilik Isolat SSA Penghasil Bioetanol

Tahap seleksi atau skrining merupakan strategi untuk mendapatkan isolat dengan karakteristik yang diinginkan. Martosuyono dan Misgiyarta (2010) menyatakan bahwa seleksi bakteri termofilik penghasil etanol dapat dilakukan dengan menggunakan medium padat TMM (*Thermophilic Minimum Medium*). Medium TMM padat yang digunakan sebagai medium seleksi ditambahkan dengan alkohol dengan konsentrasi yang ditentukan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa semua isolat (enam belas

isolat) bakteri termofilik mampu tumbuh baik dengan masa inkubasi 24 jam di dalam medium TMM padat dengan penambahan etanol pada medium selektif. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat mampu menghasilkan bioetanol.



Gambar 1 Hasil Seleksi Bakteri Penghasil Bioetanol dengan TMM Padat

Tahap 2. Fermentasi Hasil Skrining dari Medium TMM Padat

Hasil penelitian mengenai skrining dari medium TMM padat dianalisis menggunakan uji ANOVA. Pada penelitian ini dari 16 isolat yang difermentasi menggunakan medium TMM cair tidak terdapat hasil yang berbeda nyata terhadap produksi bioetanolnya. Hasil uji ANOVA didapatkan F hitung (0.9104) < F tabel (2.35). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antara sesama seluruh isolat SSA dalam menghasilkan bioetanol.

Tabel 1. Kadar bioetanol 16 isolat bakteri termofilik

No	Isolat Bakteri	Rata-Rata %
1	SSA 1	0.977
2	SSA 2	0.867
3	SSA 3	0.971
4	SSA 4	0.935
5	SSA 5	0.732
6	SSA 6	0.967
7	SSA 7	0.961
8	SSA 8	1.001
9	SSA 9	0.856
10	SSA 10	0.955
11	SSA 11	0.938
12	SSA 12	0.964
13	SSA 13	0.903
14	SSA 14	0.978
15	SSA 15	0.943
16	SSA 16	1.000

Berdasarkan Tabel 1. hasil analisis ANOVA pada penelitian tahap 2 ini mendapatkan hasil bioetanol yang tidak berbeda nyata pada taraf 5% yang diperoleh dari tiap isolat. Hasil bioetanol mempunyai kecenderungan tertinggi diperoleh pada isolat SSA 8 yaitu 1.001% dan kecenderungan hasil bioetanol terendah dihasilkan oleh isolat SSA 5 yaitu 0.732%.

Tahap 3. Produksi Bioetanol pada Variasi pH dengan Metode Fermentasi

Tabel 2. Kadar bioetanol bakteri termofilik pada variasi Ph

No	Perlakuan	Rata-rata Hasil Bioetanol
1	6.5	0.725 ^a
2	9	0.737 ^a
3	7	0.837 ^b
4	7.5	0.854 ^b
5	8.5	0.964 ^c
6	8	1.001 ^c

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pH 8 menghasilkan produksi bioetanol tertinggi yaitu 1,001%, diikuti pH 8,5 yaitu 0,964% , pH 7,5 yaitu 0,854%, pH 7 yaitu 0,837%, pH 9 yaitu 0,737%. Produksi bioetanol terendah pada pH 6,5 yaitu 0,725%. pH 8 merupakan pH penghasil bioetanol tertinggi, sehingga pH tersebut merupakan pH optimum dalam memproduksi bioetanol dari bakteri termofilik. pH sangat berkaitan dengan keberadaan ion hidrogen. Konsentrasi ion hidrogen sangat mempengaruhi aktivitas enzim, karena enzim aktif apabila asam amino yang merupakan sisi aktif enzim berada dalam keadaan ionisasi tepat. pH terlalu asam atau terlalu basa akan menyebabkan enzim terdenaturasi sehingga enzim tidak aktif (Prima, 2012).

4. KESIMPULAN

1. Bakteri Termofilik sumber air panas Sapan Sungai Aro (SSA) berpotensi dalam menghasilkan bioetanol.
2. pH optimum bakteri termofilik berpengaruh terhadap produksi bioetanol. pH optimum bakteri termofilik dalam menghasilkan bioetanol adalah pH 8 yaitu 1,001%, dan produksi bioetanol terendah pada pH 6,5 yaitu 0,725%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih saya tujukan kepada ibu Dr. Irdawati, M. Si sebagai dosen pembimbing yang telah memberikan saran dan masukan dalam penulisan artikel. Selanjutnya terimakasih kepada orang tua, rekan dan kerabat yang telah memberikan dorongan sehingga terselesaikannya artikel ini.

REFERENSI

- Adrianton, Rusydi, H., Jamaluddin. 2020. Pemanfaatan Nira Aren Sebagai Bahan Baku Etanol dalam Pembuatan *Hand Sanitizer*. *Jurnal Dedikatif Kesehatan Masyarakat*. 1(1).
- Ervianingsih, Chitra, A., Izal, Z., Hurria, Murni, M., Al Syahrir, S. 2020. Pencegahan *Covid-19* dengan Pembuatan dan Pembagian *Hand Sanitizer* di Universitas Muhammadiyah Palopo. *INDRA: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*. 1(2).
- Hendrawan, Y., Sumardi, H. S., Citra, P. R. 2017. Pengaruh pH dan Suhu Fermentasi Terhadap Produksi Ethanol Hasil Hidrolisis Jerami Padi. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. 5(1).
- Holifah, Yani, A., Arista, W. N., Butet, S., Iif, H. N. 2020. Efektivitas Antiseptik Gel *Hand Sanitizer* Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 6(2).

- Irdawati, Mades, F., Nofri, Y. 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Ari Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta*. 1.
- Martosuyono, P., dan Rogers, P. L. 2005. Stabilitas Panas Enzim PDC dari Bakteri Termofil Penghasil Etanol. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 2(2), 49-55.
- Morris, M. dan Armada, H. 2006. *Ethanol Opportunities and Questions*. ATTRA.
- Novitasari, Y. E., Nuniek, H. 2014. Screening Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas SinggahanTuban, Jawa Timur. *UNESA Journal of Chemistry*. 3(3).
- Oktavia, L., Titin, B., Dyah, R., Eli, T. 2021. Pemanfaatan Tumbuhan Sirih Hijau Sebagai *Hand Sanitizer* Alami Guna Pencegahan *Covid-19* di Dusun Sutojoyo. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. 2(1).
- Prima, R.E. 2012. Produksi Dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Xilanase dari *Acinetobacter baumannii* M-13.2A. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia
- Zilda, D. S., Kusumarini, A., Chasanah, E. 2008. Penapisan dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Termo-Asidofilik P5-A dari Sumber Air Panas Tambarana. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*,3(2), 113 – 121.