

**Pertumbuhan Massa Sel *Saccharomyces cerevisiae* Dalam Substrat
Dengan Kandungan Residu Peroksida**
***Cells Mass Growth of *Saccharomyces cerevisiae* in Substrates Containing
Peroxide Residues***

Rodiyanto^{1*)}, Ahmad Syauqi^{1**)}, Faisal^{1***)}
¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Saccharomyces cerevisiae didefinisikan sebagai organisme yang berpotensi sebagai penghasil amilase. Kandungan residu peroksida dalam substrat mengacu pada adanya senyawa peroksida yang berdampak pada pertumbuhan dan kinerja *Saccharomyces cerevisiae*. Pertumbuhan sel mikroba dalam berbagai substrat telah menjadi fokus penelitian intensif karena potensi aplikasinya dalam berbagai bidang. Tujuan dari penelitian ini untuk mempelajari pengaruh kandungan residu peroksida terhadap pertumbuhan massa sel *Saccharomyces cerevisiae*, dan mengetahui konsentrasi residu peroksida yang memberikan hasil pertumbuhan sel yang paling lambat. Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian kuantitatif dengan metode eksperimen untuk mengetahui pengaruh H₂O₂ terhadap pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae*. Media yang digunakan adalah media cair yang terdiri dari pepton gula dan pati jagung. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 944 ppm, 731 ppm, 442 ppm, 223 ppm, dan 0 ppm dengan pengamatan selama 1,2,3,4,5,6,7 x 24 jam. Adapun hasil pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* selama penelitian ini diperoleh hasil pengamatan berat massa sel pada 0 ppm, 223 ppm, 443 ppm, 731 ppm, 944 ppm, dimana rata-rata tertinggi diperoleh pada konsentrasi 443 ppm dan terendah pada 0 ppm, pertumbuhan sel yang terbentuk mempunyai pertumbuhan yang lebih cepat sehingga variasi berat massa sel setiap 24 jam relatif tidak jauh berbeda dan berat massa sel semua perlakuan lebih besar dari pada kontrol.

Kata kunci: H₂O₂, *Saccharomyces cerevisiae*, Massa sel, Substrat, Pertumbuhan sel.

ABSTRACT

Saccharomyces cerevisiae is defined as an organism that has the potential to produce amylase. The residual peroxide content in the substrate refers to the presence of peroxide compounds that have an impact on the growth and performance of *Saccharomyces cerevisiae*. The growth of microbial cells in various substrates has been the focus of intensive research due to its potential applications in various fields. The aim of this research is to study the effect of peroxide residue content on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* cell mass, and to determine the concentration of peroxide residue that produces the slowest cell growth results. The type of research that will be carried out is quantitative research using experimental methods to determine the effect of H₂O₂ on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* cells. The medium used is a liquid medium consisting of sugar peptone and corn starch. The concentrations used in this research were 944 ppm, 731 ppm, 442 ppm, 223 ppm, and 0 ppm with observations for 1,2,3,4,5,6,7 x 24 hours. As for the results of *Saccharomyces cerevisiae* cell growth during this research, the results obtained were observations of cell mass weight at 0 ppm, 223 ppm, 443 ppm, 731 ppm, 944 ppm, where the highest average was obtained at a concentration of 443 ppm and the lowest at 0 ppm, the cell growth was formed had faster growth so that the variation in cell mass weight every 24 hours was relatively not much different and the cell mass weight in all treatments was greater than the control..

Keywords: H₂O₂, *Saccharomyces cerevisiae*, cell mass, substrate, cell growth.

*) Rodiyanto, Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl Mayjen Haryono 193 Malang, Jawa Timur 65144, Telp. 0341551932 e-mail: rodiyanto43@gmail.com

**) Ir. Ahmad Syauqi M.Si, Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl Mayjen Haryono 193 Malang, Jawa Timur 65144, Telp. 0341551932 e-mail: syauqi.fmipa@unisma.ac.id

***) Faisal S.Si., M.Kes, Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl Mayjen Haryono 193 Malang, Jawa Timur 65144, Telp. 0341551932 e-mail: faisal.abd@unisma.ac.id

Pendahuluan

Saccharomyces cerevisiae telah memberikan kontribusi penting dalam bidang bioteknologi, baik dalam bioteknologi konvensional maupun rekayasa genetika modern. Khamir ini dikenal sebagai penghasil amilase yang potensial, bersama dengan bakteri dan kapang. Khamir amilolitik memainkan peran utama dalam produk-produk yang terbuat dari bahan pati karena kemampuan enzim amilasanya, terutama isoamilase, untuk menguraikan ikatan pada amilopektin. Selain itu, khamir amilolitik juga berperan dalam pembuatan etanol. Biomassa khamir dihasilkan dari bahan-bahan yang mengandung pati, seperti pada fermentasi beras untuk menghasilkan minuman dan makanan dengan kandungan karbohidrat rendah. Selama fermentasi tape ketan, khamir juga dapat menghasilkan enzim amilase [1]. Ragi tape digunakan untuk membuat produk fermentasi seperti tape ketan dan tape singkong. Ragi ini dibuat dari campuran tepung beras dengan bahan-bahan lain untuk mendukung proses fermentasi. Mikroorganisme yang ada dalam ragi tersebut mampu mengubah karbohidrat menjadi glukosa. Proses fermentasi glukosa menghasilkan alkohol dan CO₂, yang mengakibatkan penurunan nilai pH dan membentuk rasa asam [2].

Kandungan residu peroksida dalam substrat mengacu pada adanya senyawa peroksida, seperti hidrogen peroksida (H₂O₂), dalam medium pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Residu peroksida dapat berasal dari berbagai sumber, termasuk proses sanitasi, pemrosesan, atau kontaminasi. Hidrogen peroksida telah luas penggunaan sebagai oksidator dan dimanfaatkan untuk pembukaan lignin dalam material lignoselulosa untuk produksi bioetanol sebagai bahan bakar pada energi baru terbarukan [3]. Kehadiran peroksida dalam substrat dapat berdampak pada pertumbuhan dan kinerja *Saccharomyces cerevisiae* belum banyak diketahui.

Penggunaan pati jagung pada media pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* karena pati jagung mengandung glukosa yang dapat dipecah dan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber energi. Pati jagung menyediakan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan metabolisme bakteri [4].

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh kandungan residu peroksida terhadap pertumbuhan massa sel *Saccharomyces cerevisiae* dan mengetahui konsentrasi residu peroksida yang memberikan hasil pertumbuhan sel yang paling lambat

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah H₂O₂ 3%, Sel bakteri *Saccharomyces cerevisiae*, Pepton, Gula, Aquadest, dan pati jagung. Alat digunakan sebagai berikut: Botol sampel, Oven, Timbangan analitik, Pipet ukur, Erlenmeyer, LAF, Mikro Pipet, Blue tip, HotPlate, Autoclave, Spatulla, Magnetic stirer, Gelas ukur, Shaker, Plastik Wrap, Label, Alumunium Foil, Kertas Saring, Kapas, Alat tulis.

Metode

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian kuantitatif dengan metode eksperimen untuk mencari pengaruh konsentrasi residu peroksida terhadap pertumbuhan massa sel *Saccharomyces cerevisiae*. Media yang digunakan yaitu media cair yang terdiri dari pepton, pati jagung dan gula. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu A:0 ppm, B:223 ppm, C:443 ppm, D:731 ppm, dan E:944 ppm, dengan pengamatan selama 1,2,3,4,5,6,7 x 24 jam.

Cara Kerja

- Pembuatan Konsentrasi H₂O₂

Di ambil H₂O₂ sebanyak 3,3 ml dan dilarutkan kedalam 40 ml media untuk membuat larutan H₂O₂ dengan konsentrasi 944 ppm , kemudian dihomogenkan. Di ambil H₂O₂ sebanyak 2,5 ml dan dilarutkan kedalam 40 ml media untuk membuat larutan H₂O₂ dengan konsentrasi 731 ppm , kemudian dihomogenkan. Di ambil H₂O₂ sebanyak 1,6 ml dan dilarutkan kedalam 40 ml media untuk membuat larutan H₂O₂ dengan konsentrasi 443 ppm , kemudian dihomogenkan. Di ambil H₂O₂ sebanyak 0,8 ml dan dilarutkan kedalam 100 ml media untuk membuat larutan H₂O₂ dengan konsentrasi 223 ppm , kemudian dihomogenkan.

- Pembuatan Media Cair

Disiapkan pepton sebanyak 1 g, pati jagung 4 g dan gula pasir sebanyak 86 g kemudian dimasukkan dalam dalam gelas beaker 1000 ml dan ditambahkan 1000 ml aquadest setelah tercampur kemudian dipindah ke erlenmeyer 500 ml kemudian di autoclave sampai suhu 121°C, kemudian dikeluarkan dari autoclave. Dan dipindahkan ke erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan dengan larutan H₂O₂.

- Penambahan Sel *Saccharomyces cerevisiae*.

Sterilisasi alat dan bahan yang akan di gunakan kemudian siapkan media yang akan ditambahkan sel *Saccharomyces cerevisiae* dan dilakukan secara aseptik di *Laminar Air Flow* (LAF). Ditambahkan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 0,080 g, kemudian dihomogenkan. Setelah itu di shaker selama 1,2,3,4,5,6,7 x 24 jam pada suhu 28 – 30°C.

- Pengamatan Sel *Saccharomyces cerevisiae*.

Media di panaskan menggunakan hotplate sampai mendidih kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring, setelah selesai penyaringan hasil saringannya di oven selama 3 jam pada suhu 105°C setelah 3 jam di oven dikeluarkan dan ditimbang kemudian di oven lagi selama 1 jam dan ditimbang lagi sampai hasilnya konstan. Pengamatan dilakukan selama 1,2,3,4,5,6,7 x 24 jam.

- Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan adalah teknik analisis data ANOVA. Teknik analisis data anova adalah metode statistik yang digunakan untuk membandingkan rata-rata dan didahului uji normalitas [5]. Tujuannya adalah untuk menentukan apakah ada perbedaan yang signifikan.

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Analisis data untuk uji normalitas ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Persyaratan ANOVA.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		massa sel
N		35
Normal Parameters	Mean	147.1429
	Std. Deviation	89.89279
Most Extreme Differences	Absolute	.211
	Positive	.187
	Negative	-.211
Kolmogorov-Smirnov Z		1.249
Asymp. Sig. (2-tailed)		.088

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test 2		
		massa sel
N		35
Exponential parameter.	Mean	147.1429
	Most Extreme Differences	Absolute .234

Pada hasil analisis uji ANOVA diperoleh nilai 0,088 dan 0,234 dan dari hasil yang diperoleh tidak normal dan tidak eksponensial. Dengan adanya penambahan konsentrasi H_2O_2 pertumbuhan tiap 24 jam sangat berbeda massa sel yang terbentuk mempunyai pertumbuhan yang lebih cepat sehingga variasi berat massa sel setiap 24 jam relatif tidak jauh berbeda dan semua perlakuan lebih besar dari pada control.

Tabel 2. Sidik ragam atau analisis of variance (Anova)

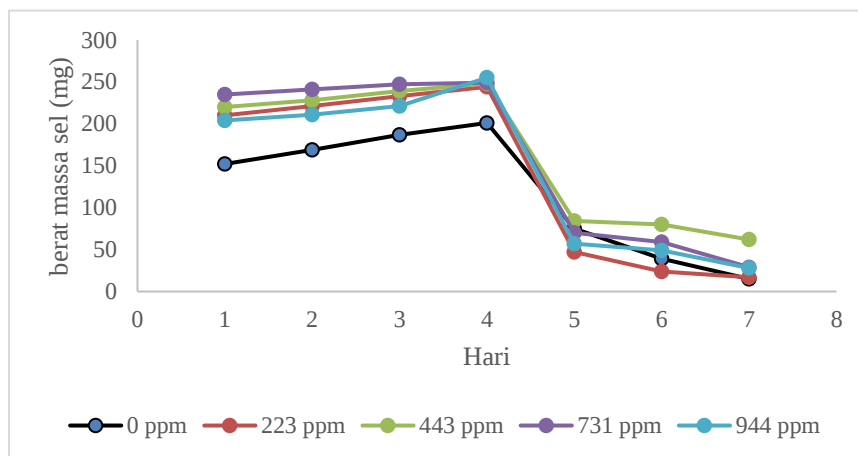
massa sel					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9315.143	4	2328.786	.263	.899
Within Groups	265429.143	30	8847.638		
Total	274744.286	34			

Dari hasil uji sidik ragam di atas diperoleh perbedaan yang tidak nyata. Sidik ragam yang tidak nyata mengindikasikan bahwa perbedaan atau hubungan yang diamati dalam data ini tidak cukup signifikan secara statistik. Dari hasil uji hipotesis menunjukkan bahwa nilai p-value yang diperoleh lebih besar dari tingkat signifikansi yang ditentukan yaitu ($P = 0,05$). Maka tidak ada cukup bukti untuk menolak hipotesis nol (H_0) dan tidak ada bukti untuk mendukung hipotesis alternatif (H_1).

Adapun rata-rata pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* selama 7 x 24 jam pada suhu 28-29,5°C dapat dilihat pada Tabel 2.-Pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* paling tinggi yaitu pada perlakuan C yaitu 165,85 mg dan paling rendah yaitu pada perlakuan A tanpa penambahan H_2O_2 dengan pertumbuhan sel sebanyak 119,71 mg. Pertumbuhan sel yang terbentuk mempunyai pertumbuhan massa sel setiap 24 jam relatif tidak jauh berbeda semua perlakuan dan berat massa sel semua perlakuan lebih besar dari pada kontrol sebagaimana ditampilkan pada Gambar 1.

Tabel 3. Rata-rata pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae*

Perlakuan	Nilai rata-rata pertumbuhan (mg)
A	119,71
B	142,28
C	165,85
D	161,42
E	146,42



Gambar 1. Grafik pertumbuhan massa sel *Saccharomyces cerevisiae*

Berdasarkan grafik di atas hidrogen peroksida berpengaruh terhadap pertumbuhan massa sel *Saccharomyces cerevisiae* dimana terdapat pada media kontrol (tanpa H_2O_2) pertumbuhan massa sel *Saccharomyces cerevisiae* untuk hari pertama dibawah 200 mg sedangkan pada media yang ditambah H_2O_2 pertumbuhan massa selnya di atas 200 mg. Menurut [6] waktu fermentasi yang paling baik untuk menghasilkan bioetanol adalah selama 4 hari. Jika fermentasi dibiarkan lebih dari 4 hari, ada kemungkinan kadar alkohol dapat menurun karena alkohol dapat berubah menjadi senyawa lain seperti ester. Menurut [7] semakin lama fermentasi berlangsung, jumlah mikroorganisme akan mengalami penurunan dan berakhir pada fase kematian. Penurunan ini disebabkan oleh peningkatan kadar alkohol yang dihasilkan serta berkurangnya nutrisi yang tersedia sebagai sumber makanan bagi mikroba. Akumulasi metabolit yang dihasilkan oleh *Saccharomyces cerevisiae* dalam konsentrasi tinggi menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian sel.

Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* mengalami peningkatan yang signifikan dari hari pertama hingga hari keempat, menunjukkan bahwa mikroba ini sedang mengalami fase pertumbuhan eksponensial atau fase log. Pada fase ini, mikroba mengurai substrat untuk mendapatkan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhannya serta mengubah glukosa menjadi bioetanol. [8] menjelaskan bahwa pada fase ini, *Saccharomyces cerevisiae* aktif melakukan reproduksi dengan membentuk tunas. Selama proses fermentasi alkohol, reaksi kimia yang terjadi dapat dirumuskan sebagai berikut: $C_6H_{12}O_6 + \text{ragi} \rightarrow 2C_2H_5OH + CO_2$

Setelah hari ke-4, *Saccharomyces cerevisiae* memasuki fase kematian, yang ditandai dengan penurunan jumlah sel yang disebabkan oleh bioetanol, metabolit utama yang dihasilkan yaitu bioetanol bersifat toksik terhadap *Saccharomyces cerevisiae* [9]. Penurunan kadar bioetanol dari hari ke-5 hingga hari ke-7 terjadi karena kemampuan ragi yang menurun dalam mengubah glukosa menjadi etanol, serta berkurangnya ketersediaan glukosa dan nutrisi dalam media.

Keberadaan hidrogen peroksida pada media pertumbuhan bakteri dapat menyebabkan stres oksidatif yang memicu respon adaptif dari bakteri. Bakteri memiliki enzim seperti katalase dan

peroksidase yang berfungsi untuk menguraikan H_2O_2 menjadi air dan oksigen dan membantu adanya pertumbuhan sel serta melindungi diri mereka dari kerusakan oksidatif.

Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. H_2O_2 berpengaruh terhadap pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* dimana dengan ditambahkannya H_2O_2 pertumbuhan rata-rata massa sel meningkat
2. konsentrasi H_2O_2 tidak berpengaruh terhadap penurunan pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* karena dengan ditambahkannya H_2O_2 membuat pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* melebihi pertumbuhan kontrol pada 1 - 4 x 24 jam dan penurunan populasi pada hari ke 5. Dan tertinggi pada 443 ppm dalam media

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada staf laboran lab terpadu dan halal center unisma yang telah membantu dalam penelitian, dekan dan seluruh jajaran fakultas serta berbagai pihak yang membantu dalam segala bidang.

Daftar Pustaka

- [1] Kustyawati ME, Sari M, Haryati T. 2013. Efek Fermentasi Dengan *Saccharomyces Cerevisiae* Terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. *Agritech*, Vol. 33, No. 3, Agustus 2013. Lampung
- [2] Oktaviana AY, Suherman D, Sulistyowati E. 2015. Pengaruh Ragi Tape terhadap pH, Bakteri Asam Laktat dan Laktosa Yogurt. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* Vol. 10 No 1 ISSN 1978-3000. Bengkulu.
- [3] Syauqi, A. 2023. The pattern of extraction factor by the delignification agent of *Gracilaria sp.* seaweed for bioethanol. 2nd International Conference on Nature-Based Solutions in Climate Change 2023. 24 Nopember. Jakarta
- [4] Sari, S. M., Ningsih, A. W., Anwaril, F., & Nurrosyidah, L. H. 2021. Modifikasi Pertumbuhan *Lactobacillus casei* Strain Shirota dengan Susu Skim yang Diperkaya Air Kelapa Hijau dan Tepung Jagung. *Jurnal Ilmiah Kimia Farmasi*, Vol.8 No.1, 14-19.
- [5] Syauqi, A. 2022. Biostatistika Komputasi Parameter Statistika Survey dan Eksperimen Biologi. Edisi Revisi. FMIPA Universitas Islam Malang. Malang.
- [6] Minarni, N., Ismuyanto, B., & Sutrisno. 2013. Pembuatan bioetanol dengan bantuan *saccharomyces cerevisiae* dari glukosa hasil hidrolisis biji durian (*durio zhibetinus*). *Kimia Student Journal*, 1(1), 36- 42.
- [7] Kunaeph, U. 2008. "Pengaruh Lama Konsentrasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah".
- [8] Kavanagh, Kevin, 2005, Fungi Biology and Applications, John Willey & Sons Ltd, England.

- [9] Wahono, S. K., E. Damayanti, V.T., Rosyida dan E.I., Sadyastuti. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* Pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol Dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L.). ISSN : 1411-4216. *Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.*