

# RAGI SUPER: TEKNOLOGI MOLEKULER BIO-ARMING UNTUK PEMANFAATAN LIMBAH LIGNOSELULOSA MENJADI ETHANOL SEBAGAI PENGGANTI BENSIN



## FILEMON JALU N.P

Laboratorium Biokatalis dan Fermentasi  
Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI  
Jl. Raya Bogor KM. 46. Cibinong



Dewasa ini penggunaan serta kebutuhan akan energi sangat luar biasa tinggi. Setiap tahunnya konsumsinya terus mengalami peningkatan drastis. Hal ini disebabkan karena faktor permintaan energi sangat tinggi. Bidang industri dan transportasi mengambil bagian terbesar dalam penggunaan energi. Hal ini berbanding terbalik dengan suplai energi yang dihasilkan dari energi fosil seperti bensin yang terbatas dan tak terbarui. Peningkatan ini menyebabkan krisis energi baik di dunia dan terkhusus di Indonesia. Penelitian dan pengembangan alternatif energi pengganti bensin banyak dan gencar dilakukan. Ethanol dari golongan biofuel adalah salah satu alternatif energi yang dapat mensuplai kontribusi energi saat ini. *Saccharomyces cerevisiae* atau yang umum disebut ragi menjadi aspek yang sangat vital dalam produksi bioethanol (Fujita, 2004). Ragi sebagai mikroorganisme pengkonversi gula dari biomassa limbah lignoselulosa yang tidak terpakai, dapat digunakan sebagai alternatif bahan bakar yang sangat signifikan manfaatnya. Lignoselulosa adalah biomassa yang terdiri atas lignin,

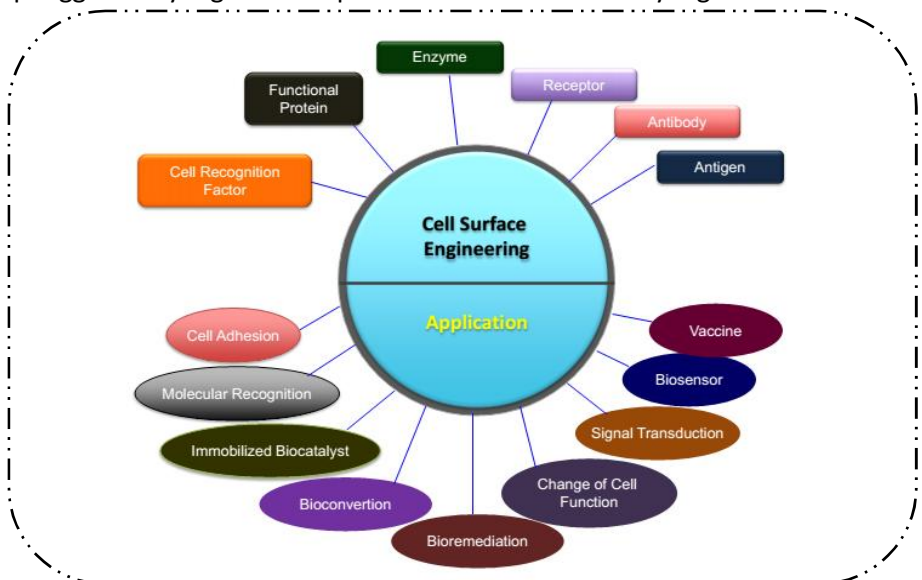
selulosa, dan hemiselulosa. Namun kendala dari alternatif energi ini adalah kurang mempunyai sel ragi dalam menghasilkan ethanol karena beragam kondisi fermentasi yang kurang sesuai seperti adanya inhibitor kimia akibat proses treatment limbah biomassa lignoselulosa dan lain-lain.

Pembuatan ragi super dengan teknik bio-arming memiliki tujuan penggunaan yang terfokus pada

adaptif terhadap beragam inhibitor.

### Konsep sel ragi super

Super dengan teknik rekayasa permukaan sel serta aplikasinya. Krisis energi terutama bahan bakar cair seperti bensin. Saat ini sedang mengalami defisit karena penggunaannya yang sangat tinggi dan tidak diimbangi pembaharuan serta pemanfaatan alternatif bahan bakar lain yang dinilai



Gambar 1. Konsep permukaan sel ragi

produksi ethanol dari limbah lignoselulosa pertanian seperti sekam padi, tongkol jagung, maupun seresah yang

masih kurang optimal (Kuroda, 2010). Istilah lebih besar pasak dari pada tiang sangat tepat untuk menggambarkan kondisi dari bahan bakar cair saat ini.

Berdasarkan pada data statistik pada tahun 2014. Bahan bakar fosil menempati urutan tertinggi dengan dengan presentase 86%, sedangkan untuk energi alternatif terbarukan hanya 9.3% (IEA, 2014). Kondisi tersebut menciptakan keresahan dari berbagai pihak. Pencarian alternatif energi serta pengoptimalan potensi energi tersebut gencar dilakukansaat ini. Ethanol adalah salah satu dari golongan energi bahan bakar cair yang terbarukan. Peningkatan potensi produksi ethanol ini dapat dikembangkan melalui pengembangan ragi yang menjadi mikroorganisme pengkonversi biomassa menjadi ethanol. Konsep aplikasi dari manfaat lain teknik rekayasa permukaan sel yang akan diterapkan pada ragi serta ragam aplikasi lainnya dijelaskan pada gambar 1.

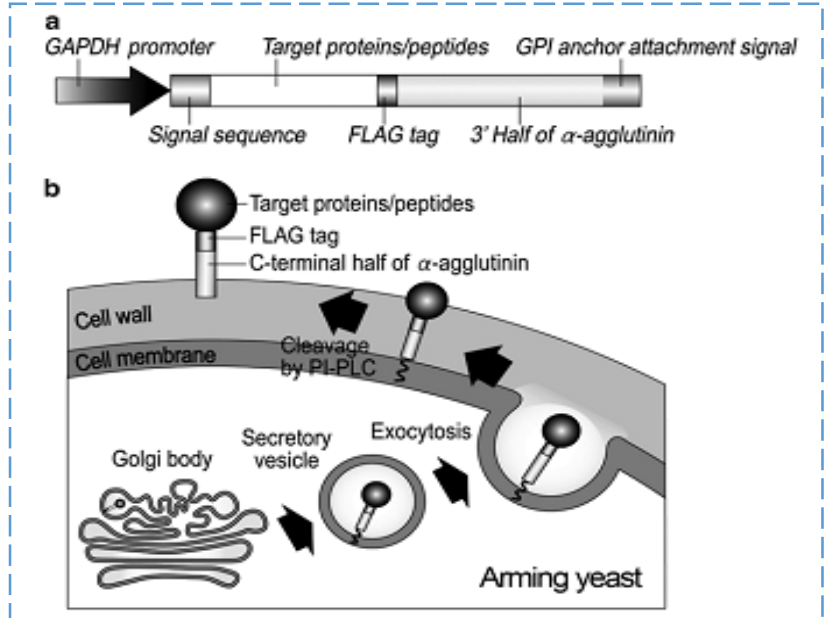
**Ragi super dan teknologi bio-arming sebagai kunci alternatif energi**

Kunci permasalahan dari produksi ethanol ini adalah dengan membuat ragi berkualitas super yang mampu menghasilkan ethanol langsung dari biomassa ataupun biomassa yang sudah diperlakukan sehingga menghasilkan ethanol. Bio-arming terkhusus dalam teknologi rekayasa permukaan sel ragi atau dapat disebut arming yeast adalah rekayasa sel sistem ragi yang memungkinkan melakukan inovasi untuk meningkatkan fungsi seluler diberbagai aplikasi seperti produksi

*Super ragi ini dapat secara maksimal memanfaatkan limbah-limbah pertanian untuk dirubah jadi ethanol sehingga dapat menjadi alternatif yang sangat baik sebagai energi pengganti*

menempatkan screening dari pustaka protein/peptida dengan mutasi kombinatorial (Jakopec, 2011).Lokasi permukaan sel, seperti dinding sel dan membran sel, memainkan peran penting dalam transduksi sinyal, pengakuan substansi, dan berbagai reaksi, dan target sehingga menjanjikan untuk rekayasa seluler. Dalam sistem ini, protein heterolog fungsional/ peptida ditampilkan di permukaan sel dengan fusi dengan bagian dari dinding sel atau membran-penahan protein sel. Tampilan permukaan sel protein/peptida fungsional akan menyebabkan peningkatan kemampuan permukaan sel ragi menjadi rekayasa dengan fungsi baru. Peningkatan kemampuan ragi ini membuat ragi jadi sangat kompeten dalam proses produksi bioethanol dengan kondisi suhu tinggi, tekanan osmotik tinggi, maupun kehadiran inhibitor kimia yang dapat menghambat proses fermentasi.

biofuel.Sistem tampilan permukaan sel atau sel “surface display system” adalah platform berharga bagi pemuliaan molekuler sel ragi fungsional baru yang optimal melalui



**Gambar 2.** Gambaran sistem permukaan sel dalam ragi berdasarkan  $\alpha$ -agglutinin. (A) membangun gen untuk tampilan permukaan sel dari protein/peptide target. (B) tampilan permukaan sel dari protein fusi dengan setengah C-terminal  $\alpha$ -agglutinin (Kuroda, 2014).

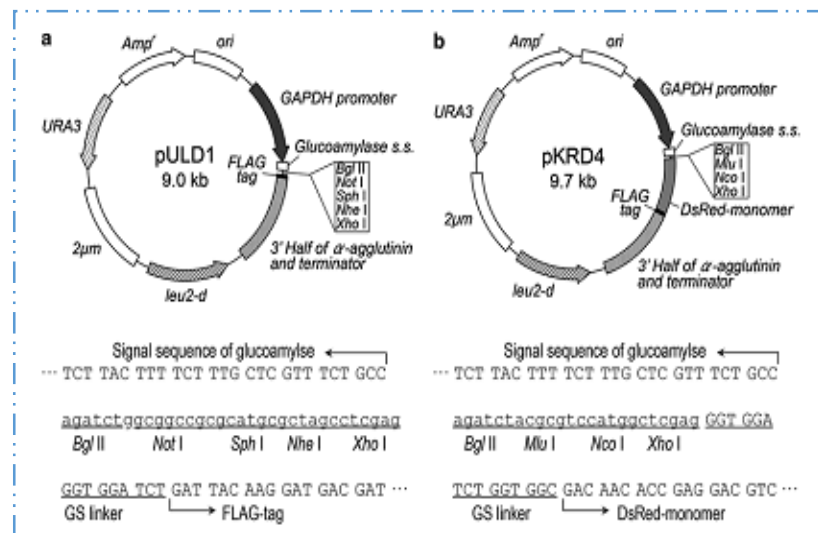
## Konstruksi ekspresi plasmid untuk surface display pada ragi super

Plasmid yang akan ditransformasikan, disiapkan dengan konstruksi amplifikasi fragmen penyandi DNA protein target/peptide pada permukaan sel ragi bersama dengan enzim restriksi pada kedua ujungnya oleh DNA polimerase (Kuroda, 2011). Setelah plasmid siap selanjutnya dilakukan transformasi ragi dengan konstruksi ekspresi plasmid. Ragi yang berpotensi menghasilkan bioethanol ditingkatkan kemampuannya dengan melakukan transformasi dengan menggunakan YEAST MAKER (suatu sistem transformasi untuk ragi). Setelah dilakukan transformasi gen plasmid ke ragi. Selanjutnya ragi dikarakterisasi dengan menggunakan DNA polimerase dengan primer Gas-F dan Ag $\alpha$ -Runtukmengkonfirmasi proses ligase (Kuroda, 2014).

Pada gambar 2 dijelaskan konsep permukaan sel ragi berdasarkan  $\alpha$ -agglutinin. Bagian (a) konstruksi gen untuk permukaan sel ragi dari protein target. Gambar bagian (b) menjelaskan permukaan sel dari fusi dengan setengah C-terminal  $\alpha$ -agglutinin dan protein target. Penjelasan tentang plasmid untuk ragi super digambarkan dengan gambar 3. Rancangan plasmid untuk permukaan sel ragi.

## Daftar Pustaka

Blount BA, Weenink T, Ellis T (2012) Construction of synthetic regulatory networks in yeast. *FEBS Lett* 586(15):21122121. 10.1016/j.febslet.2012.01.03



**Gambar 3.** Peta plasmid untuk tampilan permukaan sel dan urutan sekitar lokasi multi-kloning. (A) pULD1 untuk sel display permukaan dengan FLAG-tag. (B) pKRD4 untuk tampilan permukaan sel dengan DsRed-monomer dan FLAG-tag. Kedua plasmid dalam bingkai tanpa ligasi fragmen DNA ke dalam situs multi-kloning (Kuroda, 2014).

## Pemanfaatan limbah biomassa lignoselulosa jadi ethanol

Ragi super ini ke depan diharapkan dapat digunakan pada produksi ethanol dari limbah lignoselulosa pertanian seperti sekam padi, tongkol jagung, maupun seresahdaun. Ragi dengan kemampuan merubah gula menjadi ethanol akan ditingkatkan kemampuan metaboliknya secara molekuler (Blount, 2012). Super ragi dengan kemampuan metabolisme ragi untuk mengkonversi gula seperti glukosa, xylose, dan jenis sakarida lain menjadi ethanol dalam kondisi stres lingkungan

fermentasi. Kondisi stres pada proses fermentasi ini seperti suhu fermentasi yang tinggi, tekanan osmotik tinggi, pH media fermentasi, serta bahkan inhibitor kimia yang membunuh ragi dan menghambat produksi ethanol, seperti furfural, 5HMF, acetic acid, formic acid, levulinic acid, vanillin, dan syringaldehyde. Dengan pengembangannya super ragi ini dapat secara maksimal memanfaatkan limbah-limbah pertanian untuk dirubah jadi ethanol sehingga dapat menjadi alternatif yang sangat baik sebagai energi pengganti bensin.

Fujita Y, Ito J, Ueda M, Fukuda H, Kondo A (2004) Synergistic saccharification, and direct fermentation to ethanol, of amorphous cellulose by use of an engineered yeast strain codis playing three

types of cellulolytic enzyme. *Appl Environ Microbiol* 70:1207–1212

International Energy Agency (IEA)(2014). <http://www.iea.org/publica>

tions/freepublications/  
publication/keyworld2014.  
9 rue de la Fédération,  
75739 Paris Cedex 15,  
France

Kondo & Ueda. 2004. Yeast cell-  
surface display-applications  
of molecular display. *Appl  
Microbiol Biotechnol*.64:  
28–40.

Kuroda K, Ueda M (2011)  
Molecular design of the  
microbial cell surface  
toward the recovery of  
metal ions. *Curr Opin  
Biotechnol* 22:427–433

Jakopec V, Walla E, Fleig U (2011)  
Versatile use of  
*Schizosaccharomyces*  
*pombe* plasmids in  
*Saccharomyces cerevisiae*.  
*FEMS Yeast Res* 11:653–655

Kuroda K, Ueda M (2010)  
Engineering of  
microorganisms towards  
recovery of rare metal ions.  
*Appl Microbiol Biotechnol*  
87:53–60

Kuroda K, Ueda M (2014)  
Generation of Arming  
Yeasts with Active Proteins  
and Peptides via Cell  
Surface Display System: Cell  
Surface Engineering, Bio-  
arming Technology