

Produksi *Yeast Extract* dari *Spent Brewer's Yeast*

Yeast Extract Production from Spent Brewer's Yeast

Cuci Ayu Prahara Ardiyanti^{1*}, Guntoro¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana
Jalan Dr. Wahidin Sudirohusodo No 5 – 25, Kota Baru, Gondokusuman
Kota Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

*Corresponding authors: cuciayu@gmail.com

Manuscript received: Revision accepted:

ABSTRACT

Spent brewer's yeasts are a by product of the beer production, containing useful bioactive substances, such as proteins, amino acids, nucleotides, carbohydrates, minerals, and vitamins. Up till now, intact spent brewer's yeast has been used as a supplement to animal feed. High protein content in spent brewer's yeast (45-60% in dry weight) makes it good to be produced into yeast extract (YE) as a protein source. YE consists primarily of amino acids, peptides, nucleotides, and other soluble components, that are needed in microbiological media. This study aims to determine the differences between four physical or mechanical treatments (freezing-thawing, homogenization, glass beads, and combination of freezing-thawing and glass beads) in YE production of the cell disruption and protein content, and the quality of YE produced for microbiological media. Measurements of cell count and dissolved protein content were performed to determine the best physical method, while physical, chemical, and biological parameter measurements were performed to determine the quality of YE. The results showed that the best treatment for cell disruption was combination of freezing-thawing and glass beads with percentage of disrupted cell and soluble protein content of 99.5% and 2.779 mg / ml, respectively. YE from spent brewer's yeast contains soluble protein and α -amino nitrogen as much as 3.671 and 1.352 mg / ml, and total nitrogen and crude protein of 2.21 and 13.81 mg / ml, lower compare to commercial YE. Biological testing data YE from spent brewer's yeast has ability to increase cell density (OD) and number of colonies in *E. coli*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Saccharomyces cerevisiae* D.01. Further research on the use of spent brewer's yeast to produce YE using spent brewer's yeast without steam and glass beads with diameter less than 0.5 mm is necessary to improve the yield and quality of the YE.

Keywords: Combination of freezing-thawing and glass beads, physical treatment, spent brewer's yeast, yeast extract.

PENDAHULUAN

Yeast merupakan salah satu mikroorganisme yang banyak digunakan dalam proses produksi minuman fermentasi, misalnya bir. Selama produksi bir, *yeast* melakukan fermentasi untuk menghasilkan etanol, disamping itu juga terjadi proses respirasi yaitu perbanyakan sel sebagai produk samping. Sel *yeast* yang dihasilkan akan dipanen sampai pada generasi tertentu untuk produksi bir selanjutnya, sedangkan sel *yeast* yang sudah menurun kemampuan fermentasinya tidak akan digunakan lagi yang disebut *spent brewer's yeast*. PT Multi Bintang Indonesia, Tbk., merupakan salah satu perusahaan di Indonesia yang memproduksi bir. Data tahun 2017 menunjukkan bahwa jumlah *spent brewer's yeast* yang dihasilkan mencapai 800 – 1000 ton (PT MBI, 2017). Sejauh ini, *spent brewer's yeast* dari PT Multi Bintang Indonesia, Tbk., hanya dijual kepada pihak lain untuk dijadikan pakan ternak dengan harga yang relatif masih rendah.

Spent brewer's yeast merupakan produk samping dari proses produksi bir yang terdiri atas komponen utama berupa sel *yeast* hidup dan sel *yeast* mati, serta terdapat residu bir dan hop (Padmakumara, 2006). *Spent brewer's yeast* mengandung substansi bioaktif seperti protein,

karbohidrat, lipid, mineral, dan vitamin (Rakowska *et al.*, 2017). Saat ini, pemanfaatan *spent brewer's yeast* masih terbatas hanya sebagai tambahan pada pakan ternak dalam bentuk sel *yeast intact* atau utuh (Ferreira *et al.*, 2010), padahal kandungan protein yang tinggi dalam *spent brewer's yeast* (45-60% berat kering) berpotensi untuk diolah menjadi sumber protein tambahan untuk beberapa aplikasi.

Rakowska *et al.* (2017), menyatakan bahwa salah satu upaya untuk meningkatkan nilai tambah *spent brewer's yeast* adalah dengan mengolahnya menjadi *yeast extract*. *Yeast extract* (YE) merupakan produk hasil pemecahan sel *yeast* yang terdiri dari komponen larut seperti protein, asam amino, dan peptida (Zarei *et al.*, 2016; Padmakumara, 2006). YE banyak digunakan sebagai nutrisi pada medium pertumbuhan mikrobia. Metode umum yang digunakan dalam produksi YE antara lain autolisis dan hidrolisis yang memecah dinding sel untuk mengeluarkan komponen isi sel. Seperti diketahui bahwa sel *yeast* memiliki dinding sel yang kaku atau rigid, dinding sel *yeast* terdiri atas 30 – 60% polisakarida (β glukukan dan mannan), 15 – 30% protein, 5 – 20% lipid dan sedikit kitin (Liu *et al.*, 2013 dan Brown *et*

al., 2003). Oleh karena itu, penggunaan metode autolisis dan hidrolisis untuk produksi YE cukup rumit, membutuhkan waktu yang lama, dan mahal. Salah satu metode yang sederhana dan murah yaitu metode fisik dengan perlakuan suhu dan tekanan (Zarei *et al.*, 2016). Menurut Walker, (2009) dan Ramanan *et al.*, (2008) perlakuan suhu dan tekanan mampu membuat dinding sel tidak stabil yang kemudian dapat mengakibatkan dinding sel terpecah. Selain itu, penggunaan perlakuan fisik dalam produksi YE tidak berpengaruh terhadap kualitas YE yang dihasilkan.

Melihat begitu besar potensi yang dapat diambil dari *spent brewer's yeast*, maka dalam penelitian ini dilakukan upaya produksi YE dari *spent brewer's yeast* melalui beberapa perlakuan pemecahan sel secara fisik untuk mengetahui perlakuan pemecahan sel terbaik. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui kualitas YE dari *spent brewer's yeast*. Hal tersebut diharapkan menjadi salah satu alternatif dalam peningkatan nilai tambah *spent brewer's yeast* dan sebagai solusi dalam pengolahan limbah perusahaan bir.

METODE

Preparasi Substrat

Spent brewer's yeast slurry dari PT Multi Bintang Indonesia, Tbk., disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 4000 rpm untuk memisahkan sel *yeast* dengan larutan bir. Sel *yeast* yang diperoleh kemudian ditimbang berat basah dan disimpan pada suhu rendah.

Debitting

Sebanyak 30 gr sel *yeast* basah disuspensikan dalam akuades (konsentrasi 30%), kemudian ditambahkan NaOH 5N sampai pH 9, homogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu, suspensi *yeast* disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm, pisahkan pelet dan supernatan. Pelet atau sel *yeast* dibilas dengan disuspensikan dalam akuades steril dan dihomogenkan selama 30 menit, lalu diukur pH dan dilanjutkan sentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 4000 rpm untuk memisahkan pelet dan supernatan. Pembilasan sel *yeast* dilakukan sampai pH menjadi 6 – 7.

Pemecahan Sel Yeast

Sebanyak 15 gr *yeast* yang telah mengalami *debitting* disuspensikan dengan akuades steril sampai konsentrasi 15%, dan diatur pH 6,5. Proses pemecahan dilakukan secara fisik dengan empat perlakuan yang berbeda yaitu *homogenization*, *glass beads*, *freezing-thawing*, dan kombinasi *freezing-thawing* dan *glass beads* tiap siklusnya dilakukan sampling untuk mengukur jumlah penurunan sel utuh dan peningkatan jumlah protein terlarut.

Homogenization

Sebanyak 50 ml suspensi *yeast* dimasukkan ke dalam tabung *homogenization*, kemudian dilakukan proses pemecahan sampai lima siklus (30 menit per siklus).

Glass beads

Sebanyak 50 ml suspensi *yeast* dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 gram *glass beads* steril. Perbandingan jumlah suspensi *yeast* dengan *glass beads* adalah 1:1. Proses pemecahan dilakukan dengan

pengadukan menggunakan vortex pada kecepatan maksimal sampai lima siklus (30 menit per siklus).

Freezing-thawing

Sebanyak 50 ml suspensi *yeast* dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml didinginkan dalam *freezer* selama 30 menit dan diinkubasi dalam *waterbath* suhu 37 – 40°C selama 30 menit (dihitung sebagai satu siklus). Proses tersebut kemudian dilakukan sampai lima siklus.

Glass beads freezing-thawing

Sebanyak 50 ml suspensi *yeast* dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 gram *glass beads* steril. Kemudian dilakukan tahapan *freezing-thawing*, dilanjutkan dengan vortex (dihitung sebagai satu siklus) sampai lima kali siklus.

Pembuatan Yeast Extract Powder

Yeast extract diperoleh melalui proses pemecahan dengan perlakuan kombinasi *freezing-thawing* dan *glass beads* selama 4 siklus, kemudian sentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit dilanjutkan evaporasi pada suhu 70°C sampai volume sisa supernatan sekitar 15% dari volume awal. Kemudian dilakukan *liofilisasi* untuk dijadikan powder.

Analisa Perlakuan Terbaik dalam Pemecahan Sel

Analisa efektifitas berbagai perlakuan pemecahan sel dilakukan dengan menghitung jumlah sel utuh dengan menggunakan *haemocytometer* dan analisa kadar protein terlarut dilakukan dengan metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951).

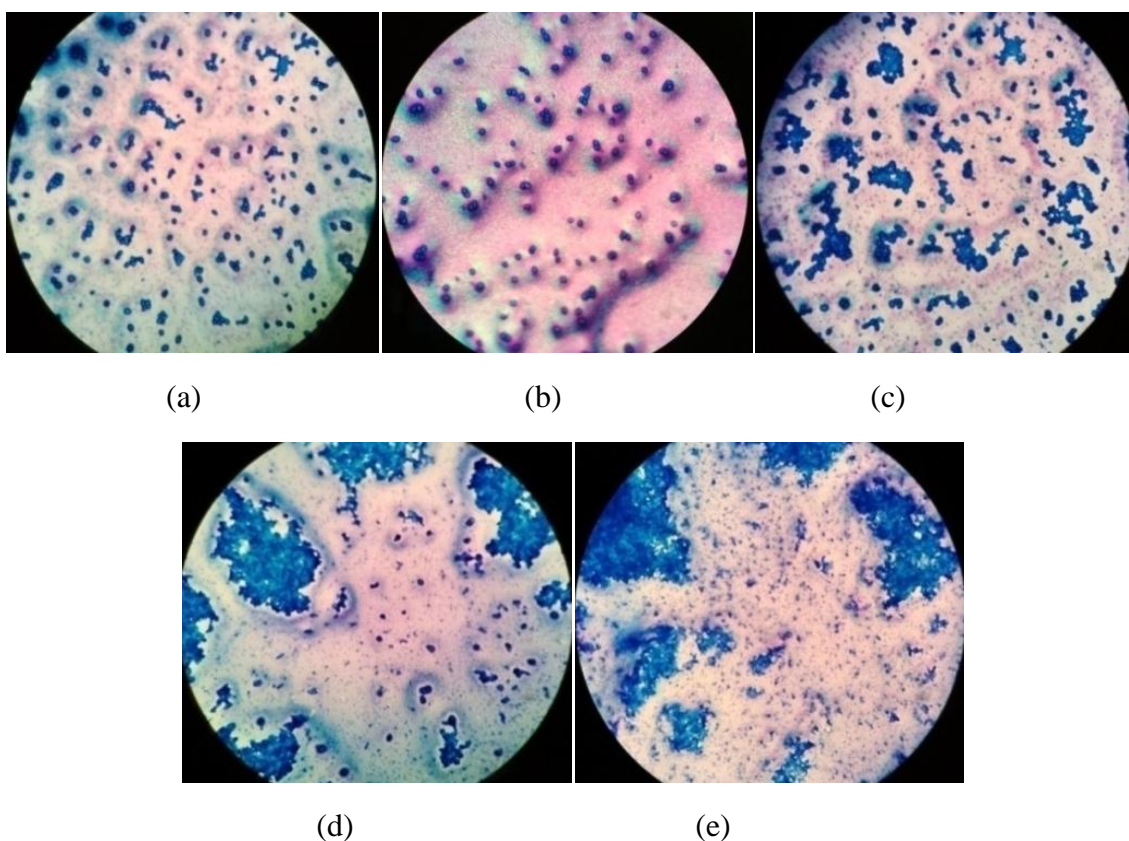
Analisa Kualitas Yeast Extract

Analisa terhadap kualitas YE dilakukan dengan pengukuran parameter fisik meliputi *total solid* melalui metode gravimetri (Bayarjargal *et al.*, 2011), *total suspended solid* melalui metode gravimetri (SNI, 2004), persen *total soluble solid* dilakukan dengan metode gravimetri (Wrobel *et al.*, 2014). Parameter kimia meliputi pengukuran pH menggunakan pH meter, kadar total nitrogen dilakukan dengan metode Kjeldahl (AOAC, 2001), protein terlarut melalui metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951), α amino nitrogen dilakukan dengan metode Ninhidrin, identifikasi asam amino menggunakan metode TLC (*Thin Layer Chromatography*). Pengukuran parameter biologi dilakukan melakukan uji kualitas YE sebagai media pertumbuhan mikrobia dilakukan terhadap pertumbuhan *E.coli*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Saccharomyces cerevisiae* D.01 dengan kondisi jumlah inokulum awal yang sama. Kualitas YE dalam *media minimal broth* dilihat dari peningkatan OD pada panjang gelombang 600 nm dan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada *media minimal agar*. Sebagai pembanding digunakan YE komersial (kontrol positif), sedangkan kontrol negatif tanpa penambahan YE.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perbedaan Perlakuan Fisik terhadap Persen Pemecahan Sel

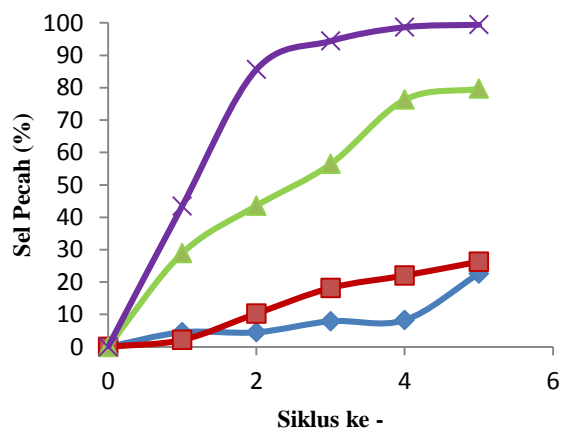
Pemecahan sel menjadi takaran penting dan penentu dalam produksi YE. Hasil berbagai perlakuan yang digunakan dalam upaya memecah sel *yeast* pada untuk memproduksi YE dapat dilihat pada gambar 1 dan 2. Pengaruh dari setiap perlakuan dalam pemecahan dinding sel *yeast* terlihat pada gambar 1.



Gambar 1. Efek Proses Pemecahan dengan Berbagai Perlakuan Fisik terhadap Sel Yeast. (A) Kontrol; (B) *Freezing-Thawing*; (C) Pemecahan Sel dengan *Homogenization*; (D) Pemecahan Sel dengan *Glass Beads*; (E) Pemecahan Sel dengan Kombinasi *Freezing-Thawing* dan *Glass Beads*.

Hasil secara mikroskopis menunjukkan bahwa jumlah sel utuh pada perlakuan *freezing-thawing* dan *homogenization* (gambar 1b dan 1c) masih banyak dan tidak jauh berbeda dengan kontrol (gambar 1a). Jumlah sel utuh yang terhitung setelah proses *freezing-thawing* dan *homogenization* masing-masing sebanyak $4,3 \times 10^8$ dan $3,5 \times 10^8$ sel/ml. Penurunan jumlah sel terbaik terlihat pada perlakuan kombinasi antara *freezing-thawing* dan *glass beads* (gambar 1e), hampir seluruhnya yang terlihat hanya sel debris atau dinding sel yang sudah terpecah, jumlah sel utuh yang tersisa setelah proses tersebut sebanyak $2,0 \times 10^6$ sel/ml.

Persen sel pecah dapat dilihat pada **gambar 2**. Hasil menunjukkan bahwa persen sel pecah yang terjadi pada perlakuan *freezing-thawing* yaitu sebesar 4,48 - 22,6% selama lima siklus pemecahan, persen sel pecah semakin baik setelah masuk dalam siklus ke lima. Negron (2010) menyatakan bahwa efisiensi perlakuan *freezing-thawing* untuk pemecahan sel akan semakin baik apabila dilakukan beberapa siklus yang membutuhkan waktu sangat panjang. Hal tersebut terkait dengan sifat dinding sel *yeast* yang kaku atau rigid, sehingga diperlukan perlakuan *freezing-thawing* dengan waktu yang cukup lama untuk memecah dinding sel. Selain itu, faktor-faktor seperti jumlah siklus dan waktu proses pemecahan sangat berperan penting pada perlakuan ini.



Gambar 2. Pengaruh Perlakuan Fisik terhadap Persen Sel Pecah Selama Proses Pemecahan. (—○—) Perlakuan *Freezing Thawing*; (—■—) Perlakuan *Homogenization*; (—▲—) Perlakuan *Glass Beads*; dan (—×—) Perlakuan *freezing-Thawing Glass Beads*. Pemecahan Sel Paling Tinggi terjadi pada Perlakuan Kombinasi *Freezing-Thawing* dan *Glass Beads*.

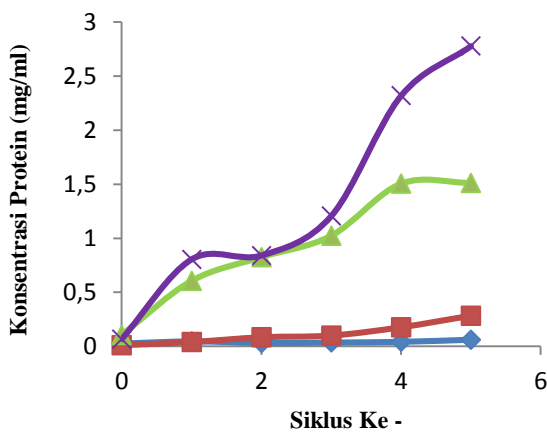
Adapun persen sel pecah terbaik terjadi pada perlakuan kombinasi *freezing-thawing* dan *glass beads*, dengan persen sel pecah sebesar 43,47 - 99,5% selama 5 siklus

pemecahan. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi dua perlakuan tersebut efektif digunakan untuk memecah dinding sel *yeast*. Demikian pula yang dilaporkan Taskova *et al.* (2006), penggunaan perlakuan fisik berupa *bead mill homogenization* dalam memecah sel memperoleh hasil yang lebih baik daripada enzim *lyticase*.

Tingginya persen sel pecah pada perlakuan kombinasi *freezing-thawing* dan *glass beads* terjadi karena dapat dikatakan bahwa perlakuan tersebut cukup lengkap untuk dapat memecah senyawa penyusun dinding sel *yeast*. *Freezing-thawing* yang memberikan pengaruh dalam membuat sel tidak stabil dapat dijadikan sebagai tahapan *pretreatment*, selain itu juga proses ini dapat digunakan untuk memutus ikatan peptida sebagai penyusun protein pada dinding sel. Sedangkan tahapan *glass beads* berperan dalam memberikan tekanan dan benturan pada susunan polisakarida (β glukosa dan mannan) dan mannoprotein dinding sel *yeast* yang bersifat kaku atau rigid.

Pengaruh Perbedaan Perlakuan Fisik terhadap Kadar Protein Terlarut

Selama pemecahan sel, terjadi proses pelepasan atau pengeluaran material sel (sitoplasma). Protein merupakan komponen utama yang terdapat dalam sitoplasma yaitu 45 - 60% (berat kering), pada tahap ini pengukuran protein menjadi bagian dari monitoring proses pemecahan dinding sel *yeast*. Pengaruh proses pemecahan sel terhadap kadar protein yang diperoleh dapat dilihat pada **gambar 3**.



Gambar 3. Pengaruh Perlakuan Fisik terhadap Kadar Protein Selama Proses Pemecahan. (—●—) Perlakuan *Freezing Thawing*; (—■—) Perlakuan *Homogenization*; (—▲—) Perlakuan *Glass Beads*; dan (—×—) Perlakuan *freezing-Thawing Glass Beads*. Perlakuan Kombinasi *Freezing-Thawing* dan *Glass Beads* Memberi Hasil Kadar Protein Tertinggi daripada Perlakuan Lainnya.

Pemecahan sel dengan perlakuan *freezing-thawing* menghasilkan kadar protein terlarut terendah yaitu sebesar 0,045 – 0,060 mg/ml. Rendahnya jumlah protein terlarut pada perlakuan *freezing-thawing* diduga terjadi karena β (1,3) glukosa pada dinding sel *yeast* belum terpecah, sehingga tidak terjadi pengeluaran sitoplasma (Wrobel *et al.*, 2014).

Adapun hasil tertinggi diperoleh pada proses pemecahan sel dengan perlakuan kombinasi *freezing-thawing* dan *glass beads*, jumlah tertinggi tercatat pada siklus ke-lima yaitu sebesar 2,75 mg/ml. Tangtwa (2014) melaporkan bahwa perlakuan *freezing-thawing* menghasilkan kadar protein yang lebih rendah (0,71±0,04 mg/ml) daripada perlakuan kombinasi *freezing-thawing glass beads* (2,57±0,13 mg/ml). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan *freezing-thawing* dapat meningkatkan efektivitas proses pemecahan sel pada perlakuan *glass beads*. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Bakir dan Hamamci (1997), yang menyatakan bahwa *freezing-thawing* lebih baik jika digunakan sebagai *pretreatment* pada proses pemecahan sel. Hal tersebut karena *freezing-thawing* dapat membuat dinding sel tidak stabil, sehingga apabila diberikan perlakuan tekanan maka akan lebih mudah untuk memutus rantai ikatan peptida maupun polisakarida (β glukosa) yang menyusun dinding sel *yeast*.

Berdasarkan data pengaruh perlakuan terhadap penurunan jumlah sel utuh dan kadar protein terlarut yang diperoleh, maka dapat dilihat hubungan atau korelasi antara penurunan jumlah sel dengan kadar protein terlarut (**tabel 1**). Hasil yang tercantum pada **tabel 1** menunjukkan bahwa semakin besar persen jumlah sel pecah akan meningkatkan jumlah protein terlarut yang diperoleh. Perlakuan terbaik yang memiliki persen sel pecah dan kadar protein terlarut paling tinggi ialah perlakuan kombinasi *freezing-thawing* dan *glass beads* (99,5% dan 2,779 mg/ml).

Tabel 1. Hubungan Persen Sel Pecah terhadap Kadar Protein Terlarut

Perlakuan	Sel Pecah (%)	Protein Terlarut (mg/ml)
<i>Freezing-thawing</i>	22,6	0,060
<i>Homogenization</i>	26,3	0,283
<i>Glass beads</i>	79,7	1,512
<i>Freezing-thawing glass beads</i>	99,5	2,779

Produk Yeast Extract (YE) dari Spent Brewer's Yeast

Produk akhir yang dihasilkan berupa *yeast extract powder* (YEP). Hasil produksi YE dari *spent brewer's yeast* sebanyak 120 gr *spent brewer's yeast* basah dapat menghasilkan 11,4 gr YEP, sehingga *yield* YEP yang dihasilkan adalah 9,5% (w/w) dengan demikian 1 gram *spent brewer's yeast* basah setara dengan 0,095 gr YEP. YEP yang dihasilkan berwarna putih kecoklatan dan beberapa masih ditemukan yang berbentuk *granule*. *Granule* yang ada merupakan padatan tak larut atau *suspended solid* yang ketika dikeringkan akan membentuk *granule*.

Kualitas Fisik dan Kimia Produk Yeast Extract (YE)

Hasil pengukuran atau analisa terhadap parameter kualitas YE dapat dilihat pada **tabel 2**. Hasil yang ditunjukkan pada **tabel 2**, jumlah *total solid* pada sampel YE *spent brewer's yeast* sebanyak 0,083 gr/ml, sedangkan *total solid* YE komersial sebesar 0,058 gr/gr. *Total solid* menjadi salah

satu parameter untuk mengukur *yield* pada ekstrak cair. Semakin tinggi jumlah *total solid*, maka *yield* yang diperoleh akan semakin meningkat.

Tingkat pemecahan dan pelepasan komponen sel *yeast* ditentukan dengan mengukur total material terlarut atau *total soluble solid*. Rendahnya jumlah *total soluble solid* dari YE menjadi indikasi bahwa proses pemecahan sel yang dilakukan kurang efektif (Wrobel *et al.*, 2014). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa jumlah *total soluble solid* yang diperoleh dari proses pemecahan sel melalui proses perlakuan kombinasi *freezing-thawing* dan *glass beads* selama 4 kali siklus yaitu sebanyak 0,053 gr/ml.

Tabel 2. Data Perbandingan Uji Kualitas Ekstrak Spent Brewer's Yeast dan YE Komersial

Parameter	Ekstrak Spent Brewer's Yeast	YE Komersial
pH	6 – 7	6 – 7
Total solid	0,083 gr/ml	0,058 gr/gr
Total soluble solid	0,053 gr/ml	0,055 gr/gr
Total suspended solid	0,035 gr/ml	0,003 gr/gr
Protein terlarut	3,671 mg/ml	137,3 mg/gr
α -amino nitrogen	1,352 mg/ml	2,46 mg/gr
Total nitrogen	2,21 mg/ml	5,13 mg/gr
Total protein kasar	13,81 mg/ml	32,06 mg/gr

Total suspended solid (TSS) menjadi salah satu parameter yang menentukan kualitas YE, terutama berkaitan dengan tingkat kelarutan dan turbiditas. Turbiditas yang tinggi akan mengganggu proses analisa saat diaplikasikan, karena medium akan menjadi keruh. Hasil pengukuran TSS pada sampel YE menunjukkan total padatan tersuspensi pada sampel YE dari *spent brewer's yeast* sebanyak 0,035 mg/ml (**tabel 2**). Padatan tersuspensi yang ada pada sampel YE berasal dari pecahan dinding sel atau sel debris yang masih terbawa. Padatan tersuspensi tersebut merupakan senyawa penyusun dinding sel, seperti β glukukan. β glukukan sendiri terdapat dua jenis yaitu larut dan tak larut, sehingga padatan tersuspensi pada sampel YE diindikasikan merupakan bagian dari β glukukan tak larut.

Protein merupakan salah satu komponen utama pada produk YE, jumlah protein terlarut yang terkandung dalam YE dari *spent brewer's yeast* sebanyak 3,671 mg/ml. Jumlah tersebut lebih rendah daripada YE komersial yaitu 137,3 mg/ml. Protein terlarut menjadi bagian dari *total soluble solid* yang mana jumlahnya dipengaruhi oleh proses pemecahan dan pengeluaran material sel. Oleh karena itu, semakin tinggi *total soluble solid* yang diperoleh, maka protein yang ada akan semakin meningkat. Selain itu, protein merupakan senyawa yang sensitif terhadap suhu karena pada suhu tinggi protein dapat terdenaturasi dan rusak. Adanya proses pemanasan terhadap *spent brewer's yeast* tidak menutup kemungkinan mengakibatkan terjadinya denaturasi pada protein yang terkandung dalam sel *yeast*, sehingga protein yang ada pada YE rendah.

Analisa α -amino nitrogen dilakukan untuk mengetahui jumlah nitrogen pada senyawa amina pada rantai α .

Pengukuran itu juga untuk mengindikasikan keberadaan dan jumlah asam amino yang terkandung dalam YE. Hasil pada **tabel 2** menunjukkan bahwa jumlah α -amino nitrogen pada YE dari *spent brewer's yeast* yaitu sebesar 1,352 mg/ml, hasil tersebut masih lebih rendah daripada YE komersial (2,46 mg/ml).

YE banyak diperankan sebagai sumber protein dan nitrogen tambahan pada beberapa aplikasi, misalnya media pertumbuhan mikrobia. Oleh karena itu, jumlah nitrogen pada sampel YE menjadi salah satu penentu kualitas produk YE. Berdasarkan data yang diperoleh, jumlah total nitrogen yang terkandung dalam YE dari *spent brewer's yeast* yaitu sebesar 2,21 mg/ml. Jumlah total nitrogen yang ada pada YE dari *spent brewer's yeast* lebih rendah daripada YE komersial, hal tersebut dapat terjadi karena adanya proses pemanasan terhadap *spent brewer's yeast* yang berakibat terjadinya proses destruksi sehingga nitrogen dalam *spent brewer's yeast* berkurang.

Analisa untuk identifikasi jenis-jenis asam amino pada YE dari *spent brewer's yeast* dilakukan secara kualitatif menggunakan *plate TLC*. Hasil analisa asam amino dengan menggunakan 13 jenis standar asam amino dapat dilihat pada **tabel 3**.

Tabel 3. Data kualitatif Asam Amino pada EY

Jenis Asam Amino	YE dari <i>spent brewer's yeast</i>	YE Komersial
Asam aspartat	-	+
Asam glutamat	-	+
Asparagin	-	+
Arginin	-	+
Sistein	+	+
Tirosin	+	+
Leusin	+	-
Alanin	+	+
Fenilalanin	+	-
Triptopan	+	-
Glysin	-	+
Prolin	-	+
Histidin	-	+

Dapat dilihat bahwa YE dari *spent brewer's yeast* positif mengandung 6 asam amino, yaitu sistein, tirosin, leusin, alanin, fenilalanin, dan triptofan. Martinez *et al.* (2001), melaporkan bahwa autolisat dari *Saccharomyces cerevisiae* mengandung alanin dan leusin dengan kadar tinggi, sedangkan untuk jenis histidin dan metionin memiliki kadar yang lebih rendah. Karakteristik kandungan asam amino dalam autolisat *Saccharomyces cerevisiae* didominasi oleh alanin, asam glutamat, serin, dan sistein, yang menyumbang sekitar 62-67% dari jumlah keseluruhan (Berlowska *et al.*, 2017).

Adapun data hasil analisa jenis asam amino yang ada pada YE dari *spent brewer's yeast* dapat dilihat bahwa dari keenam jenis asam amino yang positif, tiga diantaranya termasuk dalam golongan asam amino esensial. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Vieira *et al.* (2016) dalam Kerby and Frank, (2017), yang menyatakan bahwa *spent brewer's yeast* dikenal sebagai penyedia nutrisi salah

satunya adalah asam amino esensial. Selain itu, terdapat tiga jenis asam amino (tirosin, fenilalanin, dan triptofan) yang merupakan golongan asam amino aromatis, yaitu asam amino yang memiliki gugus benzen. Ketiga asam amino tersebut biasanya banyak diperoleh dari tanaman dan alga (Vallon dan Spalding, 2009). Triptofan sendiri menjadi bahan penting dalam produksi hormon serotonin, neurotransmitter dengan aktivitas anti depresan yang dapat mengurangi stres dan meningkatkan fungsi otak (Berlowska *et al.*, 2017).

Hasil pengukuran dari setiap parameter menunjukkan bahwa komponen seperti protein, asam amino, α -amino nitrogen, dan total nitrogen dari YE *spent brewer's yeast* masih lebih rendah daripada YE komersial. Hal ini dapat terjadi karena proses yang dilakukan masih belum optimal, sehingga diperoleh *yield* lebih rendah. Selain itu, substrat yang digunakan untuk produksi YE pada penelitian ini adalah *spent brewer's yeast* yang telah mendapatkan perlakuan berupa pemanasan (suhu $\pm 90^\circ\text{C}$). Akibatnya terjadi autolisis pada sel-sel yeast tersebut, sehingga sel terpecah dan komponen penting dalam sel keluar sebelum dilakukan produksi YE. Hal tersebut didukung juga karena jenis yeast dari *spent brewer's yeast* PT Multi Bintang Indonesia Tbk., merupakan *Lager yeast*, yang tergolong *cold-fermenting yeast* ($7 - 15^\circ\text{C}$) sehingga diluar range suhu tersebut kemampuan *yeast* mulai menurun dan tidak stabil (Reid dan Mahar, 2012). Oleh karena itu perlakuan pemanasan terhadap *spent brewer's yeast* menjadi faktor

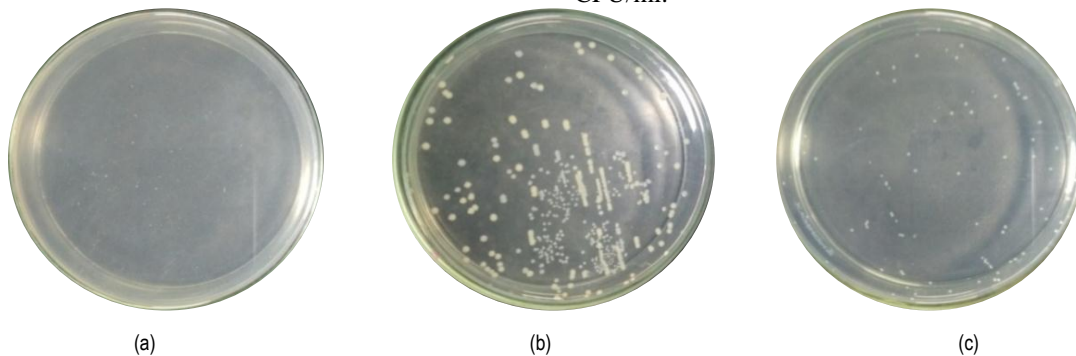
yang sangat berpengaruh terhadap YE yang dihasilkan. Meskipun demikian, tidak menutup kemungkinan bahwa YE dari *spent brewer's yeast* dapat dimanfaatkan dalam beberapa aplikasi, salah satunya yaitu sebagai komponen dalam media pertumbuhan mikrobia.

Kualitas YE sebagai Komponen Media Mikrobia

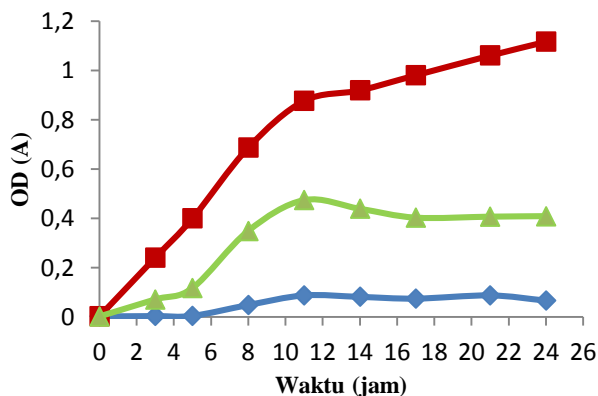
Escherichia coli

Kualitas YE dari *spent brewer's yeast* selain dari segi karakteristik fisik kimia, dilakukan juga pengujian kualitas mikrobiologis untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan mikroba. Pengujian kualitas YE dari *spent brewer's yeast* terhadap pertumbuhan dilakukan pada dua jenis media, yaitu cair dan padat (agar). *Escherichia coli* mewakili bakteri uji golongan Gram negatif yang digunakan pada penelitian ini. Pada tahap ini, dilakukan pengamatan pertumbuhan pada minimal medium agar (MMA) dan kepadatan sel dengan mengukur *optical density* (OD) pada minimal medium broth (MMB) hasil analisa dapat dilihat pada gambar 4 dan 5.

Berdasarkan hasil penghitungan koloni di MMA setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni. Jumlah koloni paling banyak diperoleh pada MMA kontrol positif (gambar 4b), yaitu $2,5 \times 10^8$ CFU/ml. Sedangkan jumlah koloni pada media sampel uji dan kontrol negatif (gambar 4a dan 4c) masing-masing adalah $1,0 \times 10^8$ dan $2,7 \times 10^7$ CFU/ml.



Gambar 4. Pertumbuhan Koloni *E. coli* pada MMA dengan Berbagai Perlakuan (A) Tanpa YE, (B) YE Komersial, (C) YE dari *Spent Brewer's Yeast*. Jumlah Koloni Paling Banyak Tumbuh pada Media dengan Penambahan YE Komersial.



Gambar 5. Pengaruh Penambahan YE terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* (—●—) MMB Tanpa YE; (—■—) MMB dengan Penambahan YE Komersial; (—▲—) MMB dengan Penambahan YE dari *Spent Brewer's Yeast*. Kepadatan Sel Tertinggi dengan Waktu Generasi Tercepat *E. coli* Terjadi pada Media Pertumbuhan dengan Penambahan YE.

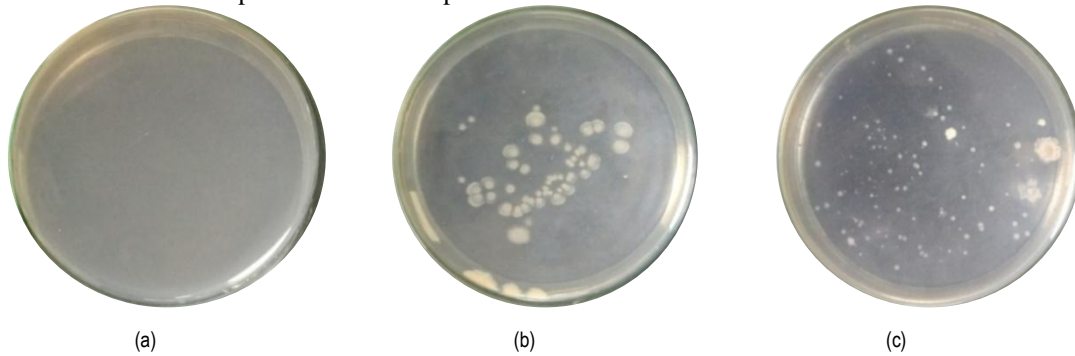
Pengukuran kepadatan sel dengan melihat peningkatan OD pada panjang gelombang 600 nm dilakukan sampai 24 jam inkubasi. **Gambar 5** menunjukkan bahwa kepadatan sel *E. coli* paling baik diperoleh pada MMB kontrol positif, OD maksimal selama 24 jam inkubasi pada medium tersebut mencapai 1,117. Sedangkan pada kontrol negatif dan sampel YE dari *spent brewer's yeast* OD maksimal

mencapai 0,088 (pada jam ke 21) dan 0,474 (pada jam ke 11). Berdasarkan data yang diperoleh, waktu generasi *E. coli* tercepat pada penelitian ini adalah 2,7 jam, sedangkan pada kontrol negatif dan sampel YE waktu generasi *E. coli* berturut-turut 3,55 dan 2,97 jam.

Staphylococcus epidermidis

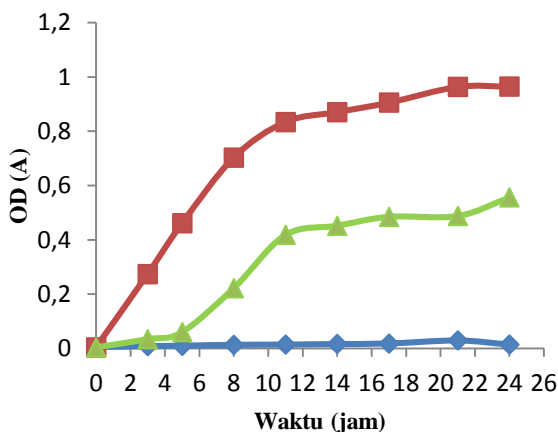
Pengujian kualitas *extract yeast* sebagai nutrisi pada media pertumbuhan mikrobia terhadap bakteri Gram positif

dilakukan sama dengan perlakuan yang diberikan pada *E. coli*. Hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus epidermidis* pada medium MMA dapat dilihat pada **gambar 6**. Setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, jumlah koloni terbanyak diperoleh dari MMA kontrol positif, yaitu sebesar $6,6 \times 10^5$ CFU/ml. Sedangkan jumlah koloni pada MMA kontrol negatif dan sampel YE dari *spent brewer's yeast* masing-masing $3,0 \times 10^5$ dan $4,1 \times 10^5$ CFU/ml.



Gambar 6. Pertumbuhan Koloni *Staphylococcus epidermidis* pada MMA dengan Berbagai Perlakuan (A) Tanpa YE, (B) YE Komersial, (C) YE dari *Spent Brewer's Yeast*. Jumlah Koloni *Staphylococcus epidermidis* pada Media dengan YE *Spent Brewer's Yeast* Masih Lebih Rendah daripada YE Komersial.

Kepadatan sel *Staphylococcus epidermidis* selama 24 jam inkubasi pada suhu 37°C dapat dilihat pada **gambar 7**. Hasil yang diperoleh selama pengukuran menunjukkan bahwa kepadatan sel *Staphylococcus epidermidis* berdasar pada nilai OD paling baik diperoleh pada kontrol positif dengan OD maksimal mencapai 0,964 (jam ke 24). OD maksimal pada kontrol negatif dan sampel YE dari *spent brewer's yeast* adalah 0,029 (jam ke 21) dan 0,556 (jam ke 24). Berdasarkan acuan data yang sama, penghitungan waktu generasi *Staphylococcus epidermidis* pada ketiga perlakuan yaitu MMA kontrol positif; negatif; dan sampel, berturut-turut 2,6; 9,3; dan 3,3 jam. Gottenbos *et al.* (2000), melaporkan bahwa waktu generasi *Staphylococcus epidermidis* pada medium kompleks berkisar antara 12 hingga 38 menit, waktu generasi menjadi 44 sampai 98 menit pada medium dengan luas permukaan yang semakin kecil.

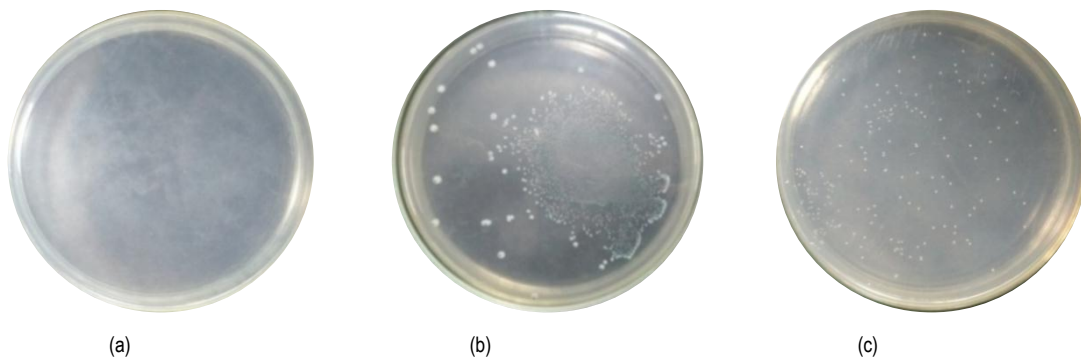


Gambar 7. Pengaruh Penambahan YE terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*. (—♦—) MMB Tanpa YE; (—■—) MMB dengan Penambahan YE Komersial; (—▲—) MMB dengan Penambahan YE dari *Spent Brewer's Yeast*. Kepadatan Sel Tertinggi dengan Waktu Generasi Tercepat *Staphylococcus epidermidis* Terjadi pada Media Pertumbuhan dengan Penambahan YE.

Saccharomyces cerevisiae D.01

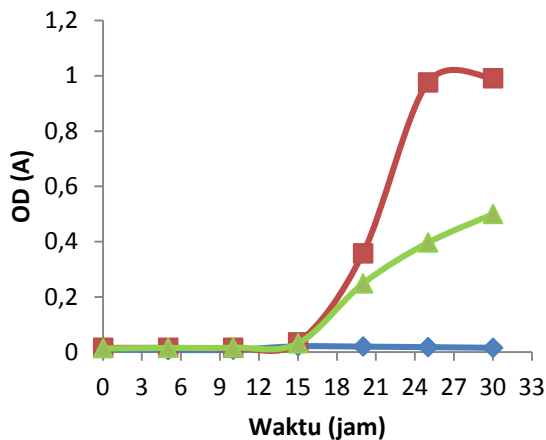
Saccharomyces cerevisiae D.01 digunakan untuk mewakili mikrobia golongan eukariotik. Berdasarkan hasil penghitungan koloni di MMA (**gambar 8**) setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, menunjukkan bahwa jumlah koloni terbanyak diperoleh pada kontrol positif sebesar $2,0 \times 10^6$ CFU/ml. Sedangkan pada perlakuan kontrol negatif dan sampel jumlah koloninya berturut-turut $1,1 \times 10^6$ dan $1,2 \times 10^6$ CFU/ml.

Hasil pengukuran jumlah kepadatan sel *Saccharomyces cerevisiae* D.01 dapat dilihat pada **gambar 9**. Menurut data yang diperoleh, peningkatan kepadatan sel terbaik terjadi pada perlakuan MMB kontrol positif dengan OD maksimal mencapai 0,99 (pada jam ke 30), sedangkan OD maksimal dari perlakuan MMB sampel YE mencapai 0,499 (pada jam ke 30). Hasil tersebut masih lebih tinggi daripada perlakuan MMB kontrol negatif yaitu 0,021 (pada jam ke 15).



Gambar 8. Pertumbuhan Koloni *Saccharomyces cerevisiae* D.01 pada MMA dengan Berbagai Perlakuan (A) Tanpa YE, (B) YE dari *Spent Brewer's Yeast*. Jumlah Total Koloni *Saccharomyces cerevisiae* D.01 pada Media dengan YE dari *Spent Brewer's Yeast* Masih Lebih Rendah daripada YE Komersial.

Adanya selisih yang cukup besar antara kontrol negatif dengan sampel menandakan terdapat pengaruh pemberian YE dari *spent brewer's yeast* terhadap pertumbuhan sel *Saccharomyces cerevisiae* D.01. Hasil penghitungan waktu generasi pada ketiga perlakuan tersebut, *Saccharomyces cerevisiae* D.01 memiliki waktu generasi sel tercepat terjadi pada perlakuan kontrol positif yaitu 1,5 jam, yang hasilnya lebih tinggi daripada waktu generasi pada perlakuan sampel (2,7 jam) dan MMB kontrol negatif (4,1 jam).



Gambar 9. Pengaruh Penambahan YE terhadap Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* D.01 (—♦—) MMB Tanpa YE; (—■—) MMB dengan Penambahan YE Komersial; (—▲—) MMB dengan Penambahan YE dari *Spent Brewer's Yeast*. Kepadatan Sel Tertinggi dengan Waktu Generasi Tercepat *Saccharomyces cerevisiae* D.01 terjadi pada Media Pertumbuhan dengan Penambahan YE.

Berdasarkan seluruh data hasil yang telah disebutkan, menunjukkan bahwa *spent brewer's yeast* berpotensi untuk diolah lebih lanjut menjadi suatu produk yang memiliki nilai tambah baik secara kualitas, seperti *yeast extract*. Dari segi ekonomi, produksi YE dari *spent brewer's yeast* sangat menjanjikan karena jika dibandingkan harga antara penjualan *spent brewer's yeast* dengan YE dari *spent brewer's yeast* memiliki selisih yang signifikan, yaitu

sebanyak 200 liter *spent brewer's yeast* yang biasa dijual seharga Rp 200.000,00 – Rp 500.000,00., jika diproses menjadi YE maka sebanyak 200 liter *spent brewer's yeast* dapat diproduksi sebanyak 9.500 gram (*yield* ±4,75%). Berdasarkan data dari *Research*

Products International(RPI) tahun 2018, harga YE powder sekitar 1.200.000,- per kg, maka dari 9.500 gram dapat dijual seharga kurang lebih Rp 11.400.000,00 jumlah tersebut belum termasuk pengurangan biaya investasi dan lainnya.

Selain itu, pemanfaatan *spent brewer's yeast* juga berperan dalam proses pengolahan limbah dari perusahaan bir. Briggs *et al.*(2004) menyatakan bahwa limbah bir memiliki kandungan organik (BOD) tinggi dan membutuhkan perlakuan untuk mengolahnya yang berarti perusahaan harus mengeluarkan biaya untuk proses tersebut, sehingga pemanfaatan *spent brewer's yeast* menjadi YE diduga atau dapat mengurangi dan mencegah pencemaran lingkungan serta memangkas biaya perusahaan untuk pengolahan limbah.

KESIMPULAN

Perlakuan kombinasi *freezing-thawing glass beads* mampu menghasilkan persen sel pecah dan kadar protein terlarut paling tinggi ialah *Spent brewer's yeast* dapat dimanfaatkan untuk produksi YE dengan kualitas yang cukup baik dan dapat digunakan untuk komponen media pertumbuhan mikrobia.

Dalam hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan *spent brewer's yeast* untuk produksi YE terutama pada jenis substrat dan proses pemecahan sel, sehingga dapat menghasilkan total *yield* dan kualitas YE yang lebih baik. Penggunaan ukuran diameter *glass beads* yang lebih kecil ($\pm 0,5$ mm) dan jenis substrat tanpa proses pemanasan (*steam*) sebelumnya dimungkinkan dapat menghasilkan *yield* dan kualitas yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada PT Multi Bintang Indonesia, Tbk., yang telah menyediakan bahan baku berupa *spent brewer's yeast* dalam penelitian ini dari awal hingga akhir dan semua

pihak yang telah memberikan dukungan yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC.(2001). Official Method. Protein (crude) in animal feed, forage (plant tissue), grain, and oilseeds. Block digestion method using copper catalyst and steam distillation into boric acid. Association of Official Agriculture Chemists. Washington, D.C.
- Bakir, U., Hamamci, H. (1997). The effect of freezing-thawing on the release of intracellular proteins from *E. coli* by means of a bead mill. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 13 : 473 – 477.
- Bayarjargal, M., Munkhbat, E., Ariunsaikhan, T., Odonchimeg, M., Uurzaikh, T., Erdene, T. G., & Regdel, D. (2011). Utilization of spent brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* for the production of yeast enzymatic hydrolysate. *Mong. J. Chem.* 12 (38) : 88-91
- Berlowska, J. Kolodziejaska, M. D., Pawlikowska, E., Przybylska, K. P., Balcerek, M., Czysowska, A., & Kregiel, D. (2017). Utilization of post fermentation yeast for yeast extract production by autolysis: the effect of yeast strain and saponin from *Quillaja saponari*. *J. Ins. Brew.* 123: 396 – 401.
- Briggs, D. E., Boulton, C. A., Brookes, P. A., & Stevens, R. (2004). *Brewing science and practice*. CRC Press LLC and Woodhead Publishing Limited. Florida
- Brown, G. D., & Gordon, S. (2003). Fungal β glucans and mammalian immunity. *Immunity.* 19 : 311 – 315.
- Ferreira, I. M. P. L. V. O., Pinho, O., Vieira, E., & Tavarela, J. G. (2010). Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential application. *Trends Food Sci. Tech.* 21 : 77 – 84.
- Gottenbos, B., Van Der Mei. H. C., & Busscher, H. J. (2000). Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers. *J. Biomed Mater Res.* 50(2) : 208 – 214.
- Kerby, C., & Frank, V. (2017). An overview of the utilisation of brewery by products as generated by british craft breweries. *Bev J.* 3(24) : 1 – 12.
- Liu, D., Zeng, X.A., Sun, D.W., & Han, Z. (2013). Disruption and proteins release by ultrasonication of yeast cells. *Innov. Food Sci. Emerg.* 18 : 132–137.
- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., & Nielsen, P. H. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265 – 275.
- Martinez, R. A. J., Carrascosa, A. V., & Polo, M. C. (2001). Release of nitrogen compounds to the extracellular medium by three strain of *Saccharomyces cerevisiae* during induced autolysis in a model wine system. *Int. J. Food Microbiol.* 68(1-2) : 155 – 160.
- Negron, J. A. (2010). Cell lysis, centrifugation. *barranquitas. Puerto Rico. Thesis : IAUPR barranquitas BIOT. Inter American University. US.*
- Padmakumara, M. G. U. (2006). Manufacture of edible yeast extract from brewery waste yeast. *Thesis. Food Science and Technology. University of Sri Jayewardenepura. Bangladesh.*
- Rakowska, R., Sadowska, A., Dybkowska, E., & Swiderski, F. (2017). Spent yeast as natural source of functional food additives. *Review Article. Rocz Panstw Zakl Hig.* 68 (2) : 115 – 121.
- Ramanan, R. N., Ling, T. C., & Ariff, A. B. (2008). The performance of a glass bead shaking technique for the disruption of *Escherichia coli* cells. *Biotech. Biopro. Eng.* 13 : 613 – 623.
- Reid, A., & Mahar, M. I. (2012). FAQ. If the yeast ain't happy, ain't nobody happy. *American Academy of Microbiology. New York. Washington, DC.*
- Research Products International. (2018). Yeast extract, powder 1 kg Y20010.1000.0. Standard Series.
- Rumsey, G. L., Kinsella, J. E., Shetty, K. J., & Hughes, S. G. (1991). Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology.* 33. 177-183.
- Standar Nasional Indonesia. (2004). Air dan air limbah – bagian 3: cara uji padatan tersuspensi total (total suspended solid, tss) secara gravimetri. BSN. Jakarta.
- Tangtua, J. (2014). Evaluation and comparison of microbial cells disruption methods for extraction of pyruvate decarboxylase. *Int. Food. Res.* 21(4) : 1331 – 1336.
- Tangler, H., & Huseyin, E. (2008). Utilisation of spent brewer's yeast for yeast extract production by autolysis: the effect of temperature. *Food Bioprod Proc* 86 : 317-321.
- Taskova, R. M., Zorn, H., Krings, U., Bouws, H., & Berger, R. G. A comparison of cell wall disruption techniques for the isolation of intracellular metabolites from *Pleurotus* and *Lepisia* sp. *Z Naturforsch.* 61c. 247 – 350. Bulgaria
- Vallon, O., & Spalding, M. H. (2009). *The Chlamydomonas sourcebook 2nd edition : Amino Acid Metabolism. Academic Press.* 2 : 115 – 158.
- Walker JM. (2009). *The protein protocols handbook. Third edition. New York (NY): Springer-Verlag New York, LLC.*
- Wrobel, A. B., Blazajak, S., Kawaraska, A., Rozanska, L. S., Gienka, I., & Majewska, E. (2014). Evaluation of the efficiency of different disruption methods on yeast cell wall preparation for β glucan isolation. *Molecules* 19 : 20941 – 20961.
- Zarei, O., Dastmalchi, S., & Mivehroud, M. H. (2016). A simple and rapid protocol for producing yeast extract from *Saccharomyces cerevisiae* suitable for preparing bacterial culture. *Iran Jour of Phar Research.* 15 (4) : 907 – 913.