

PEMANFAATAN AMPAS INTI SAWIT (*PALM KERNEL MILL/PKM*) SEBAGAI MEDIA FERMENTASI *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* SEBAGAI PENGHASIL β -GLUKAN

(*PALM KERNEL MILL/PKM AS MEDIUM IN FERMENTATION OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE TO PRODUCE β -GLUCAN*)

Retno Yunilawati, Dwinna Rahmi, Silvie Ardhanie Aviandharie, dan Syamsixman

Balai Besar Kimia dan Kemasan, Kementerian Perindustrian
Jl. Balai Kimia No.1 Pekayon, Pasar Rebo, Jakarta Timur

E-mail : eno_nila@yahoo.com

Received : 6 Februari 2015; revised : 13 Februari 2015; accepted : 24 Februari 2015

ABSTRAK

Beta glukon adalah polisakarida dari monomer glukosa yang mempunyai ikatan β -(1,3) dan β -(1,6)-glukosida, sebagai komponen utama polisakarida pada mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan khamir. *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) merupakan jenis khamir yang dapat dikembangkan untuk menghasilkan β -glukan. Pertumbuhan dan metabolisme *S.cerevisiae* dalam media fermentasi memerlukan sumber karbon yang berasal dari glukosa. Pada penelitian ini dilakukan pemanfaatan ampas inti sawit (*Palm Kernel Mill / PKM*) yang mengandung 48% karbohidrat untuk menggantikan glukosa dalam media fermentasi *S.cerevisiae* melakukan hidrolisis ampas inti sawit menggunakan asam (HCl) dan basa (NH₄OH). Hidrolisis berlangsung optimal dengan konsentrasi HCl 5% yang menghasilkan glukosa sebesar 48,67% dan konsentrasi NH₄OH 2% yang menghasilkan glukosa sebesar 55,08%. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer infra merah menunjukkan bahwa spektrum inframerah dari ekstrak β -glukan *S.cerevisiae* yang ditumbuhkan dalam media fermentasi *PKM* memiliki pola yang sama dengan spektrum inframerah ekstrak β -glukan *S.cerevisiae* yang ditumbuhkan dalam media fermentasi glukosa.

Kata kunci : β -glukan, *S.cerevisiae*, *Palm Kernel Mill*

ABSTRACT

Beta glucan is a polysaccharide of glucose monomers linked by β -(1,3) and β -(1,6)-glucose bonds, which is the main component polysaccharides in microorganisms such as bacteria, fungi, and yeasts. Saccharomyces cerevisiae (S. cerevisiae) is a type of yeast that can be developed to produce β -glucan. S. cerevisiae metabolism in the fermentation medium requires carbon source derived from glucose. In the current research was conducted utilization of Palm Kernel Mill (PKM) containing 48% carbohydrate to replace the glucose in the S.cerevisiae fermentation medium by hydrolysis using acid (HCl) and base (NH₄OH). Hydrolysis takes place optimally with 5% HCl concentration that produces glucose by 48.67% and 2% NH₄OH concentration that produces glucose by 55.08%. The analysis results using infrared spectrophotometer showed that the infrared spectrum of β -glucan S.cerevisiae extract were grown in fermentation media PKM has the same pattern with the infrared spectrum β -glucan S.cerevisiae extract were grown in glucose fermentation media.

Keywords : β -glucan, *S.cerevisiae*, *Palm Kernel Mill*

PENDAHULUAN

Beta glukon (β -glukan) adalah polisakarida yang disusun dari monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -(1,3) dan β -(1,6)-glukosida. Polimer β -glukan memiliki kemampuan untuk membentuk gel sehingga digunakan dalam industri pangan. β -glukan berbentuk butiran kristal seperti pati, bersifat

tidak larut dalam air, tetapi mudah dilarutkan dalam larutan alkali, dan dapat membentuk gel jika dipanaskan pada suhu di atas 54⁰C. β -glukan banyak digunakan dalam berbagai industri, seperti industri farmasi, makanan, makanan ternak, dan kosmetik (Suphantharika *et al.* 2003). β -glukan juga memiliki sifat anti

tumor, anti mikroba, aktivitas anti oksidan, dan absorpsi mikotoksin (Chen and Seviour 2007).

β -glukan merupakan komponen utama dari polisakarida yang terdapat pada dinding sel mikroorganisme. Beberapa mikroorganisme, seperti khamir dan jamur/cendawan dan juga sereal seperti gandum, mempunyai nilai ekonomi tinggi karena mengandung β -glukan (Widyastuti *et al.* 2011). β -glukan yang diperoleh dari dinding sel khamir diketahui memberikan efek terapi yang efektif dengan efek samping ringan dan bahkan aman digunakan serta dikonsumsi.

Saccharomyces cerevisiae (*S. cerevisiae*) merupakan jenis khamir yang diketahui dapat mensintesis β -glukan dari dinding selnya. Struktur dinding sel *S.cerevisiae* mengandung protein yang terikat dengan gula sebagai glikoprotein dan manoprotein, serta mengandung manan, kitin, dan polisakarida jenis β -1,3-glukan dan β -1,6-glukan yang berfungsi memperkuat struktur sel dan sebagai cadangan makanan (Kwiatkowski *et al.* 2009). Komposisi utama dinding sel *S.cerevisiae* adalah manoprotein, β -glukan, kitin, dan lipid. *S. Cerevisiae* sebagai sumber β -glukan, karena β -glukan dari *S.cerevisiae* memiliki berbagai sifat khas yang tidak ditemukan pada sumber β -glukan lainnya (Nguyen *et al.* 1998). β -glukan yang terdapat dalam *S.cerevisiae* sekitar 55% sampai dengan 65%, yang terdiri dari rantai panjang β -1,3 glukan (Gambar 1) dan rantai pendek β -1,6 glukan. β -glukan yang diekstraksi dari khamir menghasilkan β -glukan yang lebih murni karena mengandung sedikit sekali protein dan kontaminan-kontaminan lain.

Pertumbuhan dan metabolisme khamir di dalam media memerlukan nutrisi yang mengandung unsur makro terdiri dari karbon, nitrogen, dan oksigen, serta unsur mikro terdiri dari vitamin dan mineral. Sebagai sumber karbon di dalam media biasanya digunakan glukosa. Kusmiyati *et al.* (2007) pernah mengganti glukosa dengan molase untuk media pada produksi β -glukan *S.cerevisiae* yang dapat meningkatkan produksi bobot kering *S.cerevisiae* dan kadar β -glukan. Pada penelitian ini, akan diteliti ampas inti sawit yang dihaluskan (*Palm Kernel Mill / PKM*) dari *PKC* kelapa sawit untuk media fermentasi dalam produksi kadar β -glukan *S. cerevisiae* mengingat dalam *PKM* masih banyak terdapat glukosa. Penggunaan *PKM* sebagai pengganti glukosa untuk fermentasi *S.cerevisiae* dalam produksi β -glukan belum pernah dilakukan.

Palm Kernel Cake (PKC) adalah produk samping ekstraksi minyak inti sawit dari buah sawit (*Elaeis guineensis jacq*). *PKC*

mengandung komponen utama karbohidrat sekitar 48% dan komponen lain berupa protein, serat, minyak, air, dan abu dengan komposisi seperti terlihat pada Tabel 1. Kandungan karbohidrat yang masih cukup tinggi dalam *PKC* yang dapat dipecah menjadi glukosa, memungkinkan untuk menjadi pengganti glukosa dalam media tumbuh *S.cerevisiae*.

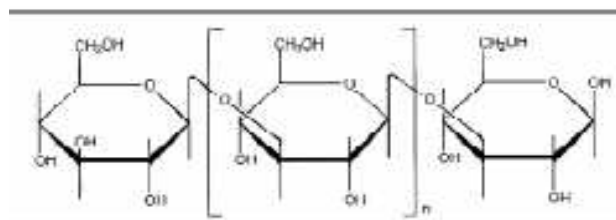
Palm Kernel Cake (PKC) dapat dihancurkan menjadi *Palm Kernel Mill (PKM)*. Selama ini *Palm Kernel Mill* dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan sebagai limbah pengolahan kelapa sawit belum dimanfaatkan secara optimal, sedangkan kandungan karbohidratnya masih tinggi sebagai penghasil glukosa.

Penelitian ini akan memanfaatkan *Palm Kernel Mill* dengan menjadikannya sebagai pengganti glukosa untuk media fermentasi *S. cerevisiae* yang dapat menghasilkan β -glukan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Palm Kernel Mill (PKM)* yang diperoleh dari PTPN VII Lampung, *S.cerevisiae* yang diperoleh dari Balai Penelitian Veteriner Bogor, asam klorida (HCl), ammonium hidroksida (NH₄OH), media *YPG (Yeast Pepton Glucose)* padat dengan komposisi pepton 2%, yeast ekstrak 1%, glukosa 2%, dan agar 2%), *BPW (Buffered Pepton Water)*, MgSO₄, ammonium sulfat, air, NaOH 2%, dan etanol.



Gambar 1. Rumus bangun β -1,3-glukan

Tabel 1. Komposisi *Palm Kernel Cake (PKC)*

No.	Komponen	Jumlah (%)
1	Karbohidrat	48
2	Protein	19
3	Serat	13
4	Minyak	5
5	Air	11
6	Abu	4

Sumber : Albuquerque *et al.* 2012

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari seperangkat alat refluks, *autoclave*, cawan petri, *shaker*, inkubator, *centrifuge*, spektrofotometer infra merah, dan spektrofotometer massa,

Metode

Hidrolisis PKM Dan Penetapan Kandungan Glukosa

Hidrolisis dilakukan menggunakan dua cara, yaitu hidrolisis menggunakan asam dan hidrolisis menggunakan basa. Untuk hidrolisis menggunakan asam, sebanyak 5 gram PKM dimasukkan dalam labu didih, ditambahkan 250 mL larutan HCl (dengan variasi konsentrasi 3%, 5%, 7%, dan 10%) kemudian dilakukan *reflux* selama 3 jam. Untuk hidrolisis menggunakan basa, digunakan larutan NH₄OH 2% 250 mL (dengan variasi konsentrasi 2%, 5%, 7%, dan 10%) dengan cara yang sama seperti hidrolisis menggunakan asam. Setelah selesai dilakukan hidrolisis, pada masing-masing produk hidrolisis dilakukan penetapan kadar glukosa.

Produksi β-glukan Dalam Media Fermentasi Yang Mengandung PKM

Kultur *S.cerevisiae* diremajakan dalam cawan petri dalam media YPG (*Yeast Pepton Glucose*) padat dengan komposisi pepton 2%, yeast ekstrak 1%, glukosa 2%, dan agar 2%. Media disterilkan terlebih dahulu dan diinkubasi pada suhu 36 °C selama 48 jam. Satu ose kultur *S.cerevisiae* ditumbuhkan dalam media sesuai komposisi (Tabel 2). Biakan dalam media diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 36 °C dalam *shaker* dengan kecepatan 150 rpm.

Pada penelitian ini, produksi *S.cerevisiae* dilakukan dengan 3 variabel media, yaitu media kontrol (menggunakan glukosa, namun tanpa penambahan PKM), kemudian menggunakan media tanpa mengandung glukosa namun ditambah PKM hasil hidrolisis asam (HCl), serta menggunakan media tanpa mengandung glukosa namun ditambah PKM hasil hidrolisis basa (NH₄OH). Konsentrasi asam (HCl) dan basa (NH₄OH) yang digunakan adalah asam dan basa yang mampu menghidrolisis PKM menghasilkan glukosa dengan kadar tertinggi.

Masing-masing media diambil sebanyak 250 mL, disterilisasi selama 20 menit dalam *autoclave* kemudian didinginkan. Setelah dingin, masukkan 10 mL biakan *S.cerevisiae* hasil pembenihan ke dalam masing-masing media,

Tabel 2. Komposisi variabel media untuk produksi *S.cerevisiae*

Jenis bahan	Variabel media		
	A (kontrol)	B (+ PKM hidrolisis asam)	C (+PKM hidrolisis basa)
Glukosa	2 %	-	-
BPW	2 %	2 %	2 %
MgSO ₄	2 g/L	2 g/L	2 g/L
Ammonium sulfat	7 g/L	7 g/L	7 g/L

kemudian inkubasi selama 7 hari pada suhu 27 °C dan 150 rpm. Setelah itu, sel dipanen dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm pada suhu 15 °C selama 10 menit. Selanjutnya dinding sel dihancurkan dengan cara 100 mL sel *S.cerevisiae* hasil sentrifugasi diambil padatannya dan supernatannya dibuang. Padatan dilarutkan dalam NaOH 2% dan disonikasi pada suhu rendah selama 10 menit. Setelah itu, dilakukan kembali sentrifugasi ulang sehingga didapatkan ekstrak β-glukan dan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer infra merah dan spektrofotometer massa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

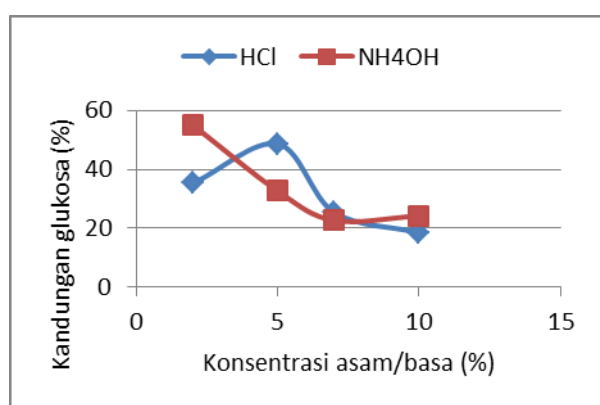
Hidrolisis PKM Dan Kandungan Glukosa PKM Yang Sudah Dihidrolisis

Proses hidrolisis PKM yang dilakukan pada *taHAp* ini bertujuan untuk memecahkan gula kompleks menjadi gula sederhana (glukosa). Secara umum, proses hidrolisis polisakarida dapat dilakukan secara kimia dan biologi. Hidrolisis secara kimia dapat dilakukan menggunakan larutan asam atau basa (Koba dan Ishikazi 1990), sedangkan secara biologi dilakukan dengan menggunakan enzim (Cervero *et al.* 2010). Hidrolisis menggunakan enzim lebih ramah lingkungan namun memerlukan biaya yang lebih mahal. Pada penelitian ini, hidrolisis PKM dilakukan secara kimia menggunakan larutan asam klorida (HCl) dan larutan ammonium hidroksida (NH₄OH) dengan beberapa variasi konsentrasi.

Kandungan glukosa dari PKM yang telah dihidrolisis menggunakan HCl dan NH₄OH secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 3 dan untuk melihat kenaikan/penurunannya, digambarkan pada Gambar 2.

Tabel 3. Kandungan glukosa PKM hasil hidrolisis HCl dan NH₄OH

Konsentrasi HCl (%)	Glukosa (%)	Konsentrasi NH ₄ OH (%)	Glukosa (%)
2	35,24	2	55,08
5	48,67	5	32,64
7	25,38	7	22,64
10	18,50	10	24,20



Gambar 2. Hubungan antara konsentrasi asam/basa dengan kandungan glukosa pada hidrolisis PKM

Pada hidrolisis menggunakan HCl, kenaikan konsentrasi HCl hingga 5% dapat meningkatkan kandungan glukosa PKM terhidrolisis. Kenaikan konsentrasi HCl hingga 5% menyebabkan lebih banyak ion hidrogen yang terbentuk dalam larutan sehingga mengakibatkan reaksi hidrolisis berjalan semakin cepat. Oleh karenanya, pemecahan ikatan glukosida akan meningkat yang menyebabkan polisakarida terkonversi menjadi glukosa (Mosier *et al.* 2002). Namun, pada peningkatan konsentrasi HCl hingga 10% justru terjadi penurunan kandungan glukosa PKM terhidrolisis. Konsentrasi asam yang terlalu tinggi dapat menyebabkan deformasi glukosa menjadi furfural dan dihidroksimetil furfural (Mosier *et al.* 2002) sehingga jumlah glukosa akan berkurang. Berdasarkan hal tersebut, dapat dikatakan bahwa konsentrasi HCl yang optimal untuk hidrolisis PKM adalah sebesar 5% yang dapat menghasilkan PKM terhidrolisis dengan kandungan glukosa 48,67%.

Pada hidrolisis menggunakan NH₄OH, didapatkan hasil bahwa dengan konsentrasi yang rendah (2%) sudah dapat menghidrolisis PKM hingga dihasilkan glukosa sebanyak 55,08%. Kenaikan konsentrasi NH₄OH untuk hidrolisis, menyebabkan turunnya kandungan glukosa PKM terhidrolisis. Hal ini disebabkan karena molekul glukosa sangat cepat dihancurkan oleh larutan alkali dengan konsentrasi tinggi di dalam larutan yang panas.

Produksi β-glukan *S. cerevisiae* Dalam Media Fermentasi Yang Mengandung PKM

Penelitian produksi β-glukan *S. cerevisiae* sudah banyak dilakukan dengan media fermentasi mengandung glukosa. Glukosa merupakan sumber karbon yang merupakan nutrisi makro yang sangat dibutuhkan bagi pertumbuhan dan metabolisme khamir. Penggunaan PKM sebagai pengganti glukosa untuk fermentasi *S. cerevisiae* dalam produksi β-glukan belum pernah dilakukan. Penggunaan sumber glukosa lain yang sudah pernah dilakukan, antara lain penggunaan molase dalam fermentasi *S. cerevisiae* penghasil β-glukan (Kusmiyati *et al.* 2007).

Kandungan glukosa dalam PKM terhidrolisis ditunjukkan pada Tabel 3, memungkinkan untuk menjadi pengganti glukosa dalam pertumbuhan dan metabolisme *S. cerevisiae* yang merupakan sumber β-glukan. PKM yang digunakan untuk proses fermentasi ini adalah PKM yang sudah dihidrolisis oleh asam (HCl) dan basa (NH₄OH) dengan konsentrasi optimal yang dapat menghasilkan glukosa tertinggi (Tabel 3), yaitu HCl 5% dan NH₄OH 2%.

Hasil Identifikasi β-glukan *S. cerevisiae* Dengan Menggunakan Spektrofotometer Infra Merah

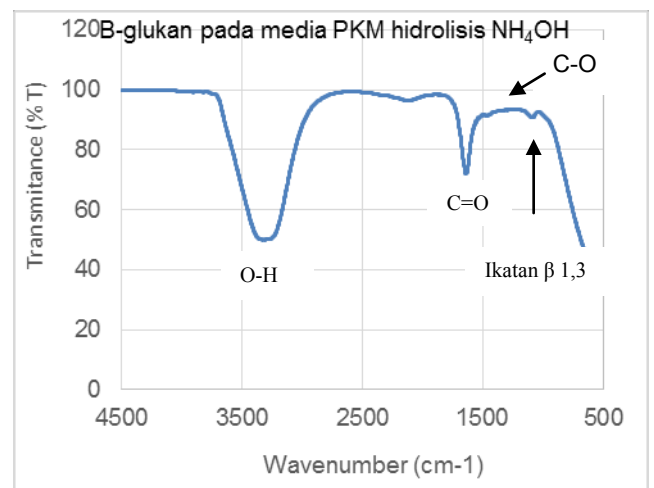
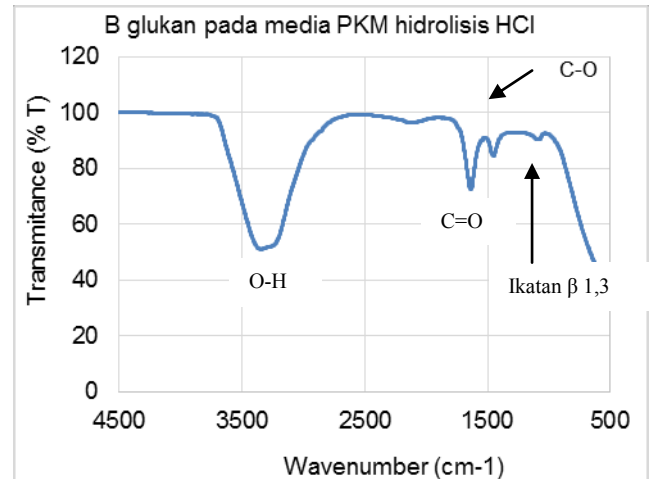
Metode analisis menggunakan spektrofotometer inframerah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75 μm sampai dengan 1.000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000 cm⁻¹ sampai dengan 10 cm⁻¹. Spektroskopi inframerah sangat berguna untuk analisis kualitatif atau identifikasi dari senyawa organik karena setiap senyawa organik menghasilkan spektrum yang khas, yang sesuai dengan gugus fungsi yang dimilikinya. Absorpsi sinar infra merah oleh senyawa organik menghasilkan suatu spektrum yang dapat diidentifikasi dengan membandingkannya dengan spektrum yang menjadi referensi.

Identifikasi menggunakan spektrum infra merah lebih mudah digunakan dan sensitif terhadap perubahan dalam komposisi ekstrak dinding sel *S. cerevisiae* (Zimkus *et al.* 2011). Pola spektrum inframerah dari ekstrak β -glukan *S.cerevisiae* yang ditumbuhkan pada media kontrol dan media PKM ditampilkan pada Gambar 3. Ketiganya memiliki pola spektrum yang mirip. Berdasarkan pola spektrumnya, terdapat beberapa gugus fungsi utama yang mencirikan senyawa β -glukan seperti dipaparkan pada Tabel 4.

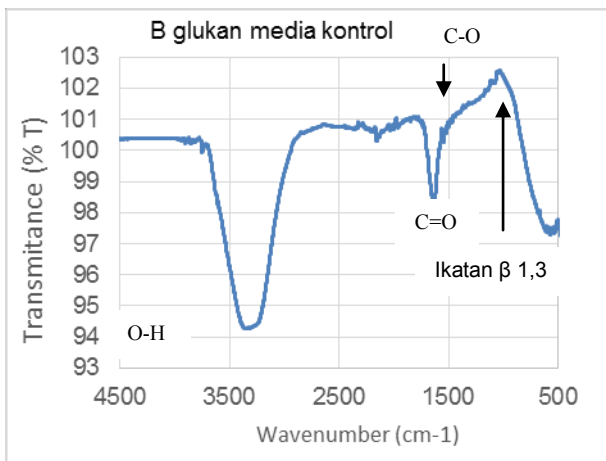
Identifikasi gugus fungsi pada Tabel 4 dilakukan dengan membandingkan spektrum referensi β -glukan *S.cerevisiae* hasil penelitian Zimkus *et al.* (2011) yang sudah diverifikasi. Gugus fungsi pada Tabel 4. menggambarkan struktur senyawa glukan, dimana ikatan spesifik β -1,3 glukan terletak pada bilangan gelombang 1084 cm^{-1} sampai 1150 cm^{-1} . Selain itu terdapat gugus fungsi lain, yaitu CH_2 , C-H, dan C-O pada bilangan gelombang 1300 cm^{-1} sampai 1500 cm^{-1} (Synytsya and Novak 2014) yang terdapat pada cincin glukosa, kemudian O-H yang terikat pada tiap cincin glukosa pada panjang gelombang 3200 cm^{-1} sampai 3600 cm^{-1} .

Ikatan spesifik β -1,3 glukan terdapat pada ketiga ekstrak β -1,3 glukan *S.cerevisiae*, yaitu *S.cerevisiae* yang ditambahkan pada media kontrol (mengandung glukosa), media PKM hidrolisis HCl, dan media PKM hidrolisis NH_4OH . Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa PKM dapat menggantikan glukosa sebagai media *S.cerevisiae* untuk memproduksi β -glukan.

Beberapa gugus fungsi utama dari pola spektrum mencirikan senyawa β -glukan seperti dipaparkan pada Tabel 4.



Gambar 3. Pola spektrum infra merah β -glukan pada media kontrol dan media PKM



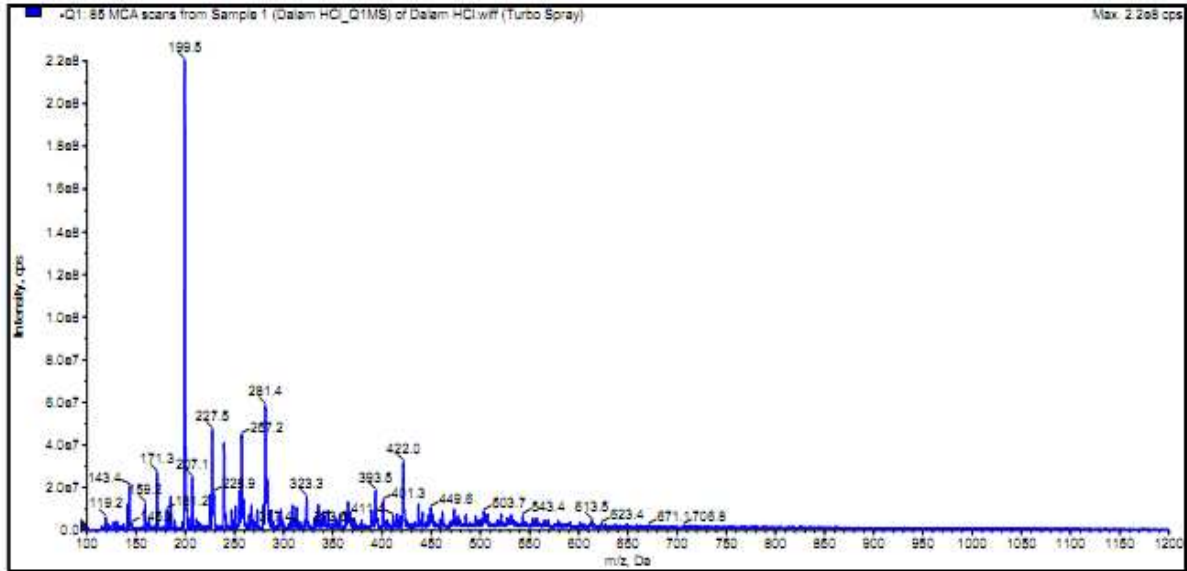
Tabel 4. Bilangan gelombang spektrum inframerah ekstrak β -glukan *S.cerevisiae*

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Gugus fungsi/ikatan
1084 sampai 1150	β 1,3 glukan
3200 sampai 3600	O-H
1300 sampai 1500	CH_2 , C-H, C-O
1650	C=O

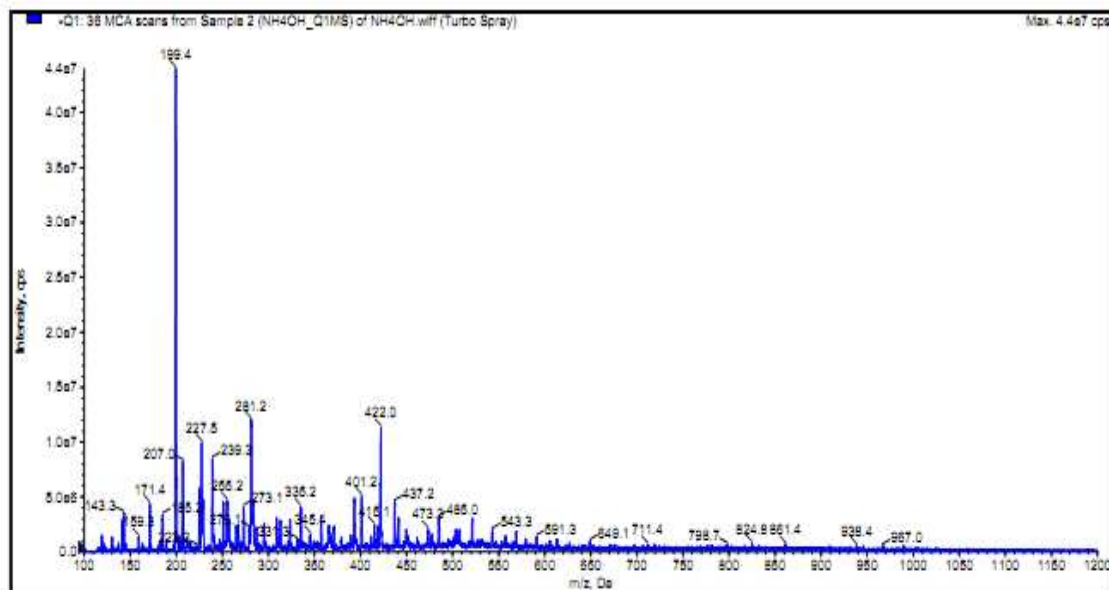
Hasil Identifikasi β -glukan *S.cerevisiae* dengan Menggunakan Spektrofotometer Massa

Spektrometri massa merupakan suatu metode analisis instrumental yang digunakan untuk identifikasi dan penentuan struktur dari komponen sampel dengan cara menunjukkan massa relatif dari molekul komponen dan massa relatif hasil pecahannya (m/z). Spektrum massa ekstrak β -glukan *S.cerevisiae* yang ditumbuhkan

pada media *PKM* dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5. Kedua spektrum menunjukkan pola fragmentasi yang sama, yang menunjukkan bahwa senyawa keduanya memiliki struktur yang sama. Puncak paling tinggi terdapat pada m/z 199. Puncak paling tinggi ini disebut sebagai puncak dasar, yang menunjukkan ion fragmen yang paling banyak terbentuk, atau karena ia merupakan ion yang stabil.



Gambar 4. Spektrum massa ekstrak β -glukan *S. cerevisiae* yang ditumbuhkan pada media *PKM* yang dihidrolisis HCl



Gambar 5. Spektrum massa ekstrak β -glukan *S.cerevisiae* yang ditumbuhkan pada media *PKM* yang dihidrolisis NH_4OH

KESIMPULAN

Penggunaan PKM terhidrolisis asam (HCl 5%) maupun basa (NH₄OH 2%) dalam fermentasi *S.cerevisiae* dapat menggantikan fungsi glukosa untuk memproduksi β-glukan. Spektrum infra merah dari ekstrak β-glukan *S.cerevisiae* yang ditumbuhkan dalam media fermentasi PKM memiliki pola yang sama dengan spektrum inframerah ekstrak β-glukan *S.cerevisiae* yang ditumbuhkan dalam media fermentasi glukosa. Untuk penelitian selanjutnya, perlu dilakukan analisis β-glukan secara kuantitatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Balai Besar Kimia dan Kemasan dan Korea Institute of Industrial Technology yang telah memberikan dana untuk penelitian ini, serta para staf laboratorium yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Albuquerque, N.I., D.A. de Araujo Guimaraes, H.L.Tavares Dias, P.C. Teixeira, and J.A. Moreira. 2012. Use of Palm Kernel Cake (*Elaeis guineensis* and *Orbignya phalerata*), co-products of the biofuel industry, in collared peccary (*Pecari tajacu*) feeds. *Biofuel co-product as livestock feed* : 263-273.
- Cervero, J.A., P.A. Skovgaard, C. Felby, H.R. Sorensen, and H.Jorgesen. 2010. Enzymatic hydrolysis and fermentation of palm kernel press cake for production of bioethanol. *Enzyme and microbial technology* 46: 177-184.
- Chen, J., and R. Seviour. 2007. Medicinal importance of fungal beta-(1-3), (1-6)-glucans. *Mycol Res* 111(6):635-652.
- Hunter, K.W., R.A. Gault, and M.D. Berner. 2002. Preparation of microparticulate β-Glucan from *Saccharomyces cerevisiae* for use in immune potentiation. *Letters in applied microbiology* 35 (4): 267-269.
- Jun, T.Y., I.I. Muhamad, dan S. Shaharuddin. 2013. Alternative source of beta-glucan from oil palm (*elaeis guineensis*) trunk fiber. *Jurnal teknologi* 64(2): 63–68.
- Koba, Y. and A. Ishizaki. 1990. Chemical Composition of Palm Fiber And Its Feasibility as Cellulosic Raw Material for Sugar Production. *Agriculture, biology and chemistry* 54 (5): 1183-1187.
- Kusmiyati, S.R.Tamat, S.Nuswantara, dan N. Isnaini. 2007. Produksi dan penetapan kadar β-glukan dari tiga galur *saccharomyces cerevisiae* dalam media mengandung molase. *Jurnal ilmu kefarmasian indonesia*: 7-16.
- Kwiatkowski, S., U. Thielen, P. Glenny, and C. Moran, 2009. A study of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall glucans. *The journal institute of brewing & distilling* 115 (2):151-158.
- Lee, M., C.J. Moon, and J.H. Lee. 2001. Purification of soluble β-Glucan with immuno-enhancing activity from the cell wall of yeast. *Journal of bioscience, biotechnology and biochemistry* 65: 837- 841.
- Mosier, N.S., C.M. Ladisch, and M.R.Ladich. 2002. Characterization of acid catalytic domains for cellulose hydrolysis and glucose degradation. *Biotechnology and bioengineering* 6(79): 610-618.
- Najafpour, G., A. Ideris, S. Salmanpour, and M. Norouzi. 2007. Acid Hydrolysis Of Pretreated Palm Oil Lignocellulosic Wastes. *IJE Transactions B: applications* 20(2):147-156
- Naruemon, M., S. Romanee, P. Cheunjit, H. Xiao, L.A. McLandsborough, and Pawadee. 2013. Influence of additives on *Saccharomyces cerevisiae* β-glucan production. *International food research journal* 20 (4): 1953-1959.
- Nguyen, T.H., G.H. Fleet, and P. Rogers. 1998. Composition of the cell walls of several yeast species. *Applied microbiology and biotechnology*. 50(2): 206-212.
- Petravic-Tominac, V., V. Zechner-Krpan, S. Grba, S. Srecec, I. Panjkota-Krbavcic, and L. Vidovic. 2010. Biological Effects of Yeast β-Glucans. *Agriculturae conspectus scientificus* 75: 149–58.
- Rodiansono, U.B.I. Utami, N. Widyastuti, N. Wulandari, dan I. Risnawati. 2013. Hidrolisis lignoselulosa dari tandan kosong kelapa sawit menggunakan katalis asam karboksilat. *Sains dan Terapan Kimia* 7 (1): 60-71.
- Suphantharika, M., P. Khunrae, P. Thanardkit, and C. Ver duyn. 2013. Preparation of spent brewer's yeast β-glucans with a potential application as an immunostimulant for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Bioresources technology*. 88: 55–60.

- Synytsya, A. and M. Novak. 2014. Structural analysis of glucans. *Analysis of Translational Medicine* 2(2):17-31.
- Thontowi, A., Kusmiati, dan S. Nusantara. 2007. Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada *Air-Lift Fermentor*. *Biodiversitas* 8 (4): 253-256.
- Widyastuti, N., T. Baruji, R. Giarni, H. Isnawan, dan P.W Donowati. 2011. Analisa Kandungan Beta-Glukan Larut Air dan Larut Alkali Dari Tubuh Buah Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Shiitake (*Lentinus edodes*). *Jurnal sains dan teknologi indonesia* 13 (3): 182-191.