

PENGARUH VARIASI KECEPATAN AGITASI PADA PRODUKSI B-GLUKAN DARI *Saccharomyces cerevisiae*

Laras Cempaka

Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Bakrie, Kuningan Jakarta 12920, Indonesia

*Corresponding author: laras.cempaka@bakrie.ac.id

Abstract

β -glucan is very interesting to study because of a variety of benefits that it provides. *Saccharomyces cerevisiae* is a unicellular yeast which has a β -glucan component of the biggest in the cell wall. This study aimed to describe the effect of agitation speed on the production of β -glucan from *S. cerevisiae*. Agitation speed plays an important role in cell growth. This research used agitation speed at 80 rpm, 120 rpm and 200 rpm. The research design used was a completely randomized design with three replications. During the fermentation in sixteen hours, several parameters were examined including cell number, pH, glucose and protein of the medium and the crude β -glucan. β -glucan extraction procedures done by adding NaOH 2% solution to the fermented product. Then, the supernatant was neutralized with acetic acid solution. To get the crude deposits of β -glucan, ethanol 96% was added in volume as three times of the supernatant. Production of β -glucan was increases along with the growth of the cell. Data analysis was performed using one way ANOVA test followed by LSD analysis. Production of β -glucan increases with cell growth. pH value, the concentration of carbon source and nitrogen source on the substrate decreased during the fermentation process. β -glucan production also increased as the rising of agitation speed from the 80 rpm until 200 rpm. Rate of β -glucan production in 80 rpm, 120 rpm and 200 rpm were 18.19 $\mu\text{g L}^{-1}$ /hour, 40.42 $\mu\text{g L}^{-1}$ /hour, 44.03 $\mu\text{g L}^{-1}$ /hour, respectively. Based on the experiment results, the most optimum agitation speed for beta-glucan were respectively 200 rpm with beta-glucan content reached 1624.44 $\mu\text{g/L}$.

Keywords : Agitation, β -glucan, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

PENDAHULUAN

β -glukan menjadi bahan yang sangat menarik untuk dikaji karena beragam manfaat yang diberikannya. β -glukan berpotensi sebagai stimulator sistem imun yang melindungi tubuh dari infeksi patogen (virus, bakteri, fungi) sebagai antitumor juga sebagai antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas. Selain itu, β -glukan dapat pula sebagai zat penambah keefektifan suatu antibiotik dan penurun kolesterol LDL di dalam tubuh (Thontowi, 2007).

β -glukan dapat diperoleh dari berbagai macam organisme diantaranya bakteri, jamur maupun tumbuhan, namun β -glukan lebih

efektif diperoleh dari dinding sel ragi dibandingkan sumber lainnya (Thontowi, 2007). *Saccharomyces cerevisiae* termasuk ragi uniseluler yang merupakan galur potensial penghasil β -glukan, karena sebagian besar dinding selnya tersusun atas β -glukan (Lee, 2001; Cabib, 2001; Lesage dan Bussey, 2006). *S. cerevisiae* ini menjadi sangat intensif dipelajari terutama aspek biologis yang berkaitan dengan dinding selnya (Reclavsky, 1998; Thontowi, 2007).

β -glukan ini dapat ditingkatkan produksinya dengan memperhatikan segala aspek yang mendukung pertumbuhan sel ragi (Pelczar, 1988; Black, 1999; Madigan &

Martinko, 2006). Oleh karena itu, perlu dikaji hal-hal yang mendukung pertumbuhan sel seperti ketepatan dalam menentukan komposisi medium maupun pengondisian lingkungan saat proses fermentasi berlangsung. Hal tersebut penting dalam kaitannya dengan transfer nutrien dan oksigen ke dalam sel.

Metabolisme secara aerob adalah pilihan yang tepat untuk mendukung pertumbuhan sel, karena ATP yang terbentuk akan jauh lebih besar dibandingkan pada metabolisme anaerob. Energi dari sumber tersebut yang dibutuhkan untuk membangun konstituen sel. Sebaliknya jika kondisi anaerob yang terjadi, maka sel akan merespon dengan cara mengeluarkan metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan kehidupan sel terhadap kondisi yang tidak sesuai dengan pertumbuhannya, dalam hal ini *S. cerevisiae* akan mengeluarkan metabolit berupa etanol dalam kondisi anaerob pada kadar etanol tertentu, sel akan mengalami kematian. Salah satu cara mempertahankan kondisi yang aerob adalah dengan memberikan pengadukan pada kultur fermentasi, karena peranan agitasi diantaranya adalah menaikkan kecepatan kelarutan oksigen, mempercepat transfer nutrien dan oksigen ke dalam sel, sehingga agitasi perlu dilakukan untuk mengoptimalkan potensi pembentukan β -glukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kecepatan agitasi terhadap pembentukan β -glukan oleh *S. cerevisiae*, serta menentukan kecepatan agitasi yang terbaik

MATERIAL DAN METODE

Media fermentasi cair sebanyak 100 mL dibuat dengan komposisi sebagai berikut: Konsentrasi glukosa sebesar 4% diperoleh dari penelitian sebelumnya (Cempaka, 2014). Semua bahan dilarutkan dalam air, dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah preparasi, inokulum sebanyak 10^6 sel/mL diinokulasi. Fermentasi berlangsung selama 16 jam dengan kondisi suhu 28°C, pH medium.

Selama fermentasi berlangsung dilakukan pengambilan sampel setiap 4 jam sekali.

Metode penghitungan jumlah sel dilakukan dengan pencuplikan sampel setiap dua jam sekali selama 24 jam proses fermentasi. Sampel sebanyak 1 tetes dituangkan ke atas *counting chamber*, kemudian jumlah populasi mikroba diamati dengan mikroskop. Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Penentuan kadar glukosa dengan metode Somogyi Nelson yaitu sebanyak 2 mL sampel ditambahkan reagen Somogyi I sebanyak 1,6 mL dan reagen Somogyi II sebanyak 0,4 mL. Kemudian dikocok dan dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit. Setelah itu sampel didinginkan dalam air es, lalu ditambahkan dengan larutan Nelson sebanyak 2 mL dan akuades sebanyak 4 mL. Campuran tersebut kemudian dikocok dengan menggunakan vorteks hingga homogen. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm. Penentuan kadar protein dengan menggunakan metode Lowry yaitu Sampel kultur sebanyak 0,1 mL ditambahkan 3,9 mL akuades dan 5,5 mL larutan Lowry kemudian dilakukan homogenisasi dengan menggunakan vorteks dan didiamkan selama 15 menit. Setelah itu dilakukan penambahan larutan Folin ciocalteau akuades (1:1) sebanyak 0,5 mL, lalu dilakukan homogenisasi kembali dan didiamkan selama 30 menit. Blanko dibuat dengan mengganti sampel dengan 0,1 mL akuades. Pengukuran absorbansi protein dilakukan pada panjang gelombang 650 nm dengan menggunakan spektrofotometer Spektronik 20.

Penentuan kadar β -glukan kasar sebagai berikut sampel kultur sebanyak 15 mL disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 20 menit pada suhu 15°C. Supernatant dibuang, pelet biomassa sel ditambahkan 5 mL NaOH 2%, lalu dipanaskan selama 5 jam pada suhu 90°C. Proses pembasaan tersebut berfungsi untuk memisahkan komponen mannoprotein dari komponen sel lainnya serta proses pembasaan tersebut mampu menaikkan kelarutan dari β -glukan. Suspensi biomassa

sel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Ke dalam supernatan yang diperoleh ditambahkan CH₃COOH tetes demi tetes hingga pH larutan sekitar 6,8-7, setelah itu diendapkan dengan 3 kali volume etanol 96%. Penambahan etanol 96% ini berfungsi untuk membentuk endapan β-glukan. Endapan yang terbentuk dipisahkan melalui sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Endapan yang terdapat diujung tabung sentrifugasi dipindahkan pada kertas saring Whatman No. 1 yang sudah diketahui bobotnya kemudian dibilas dengan etanol. Terakhir keringkan pada suhu ruang semalam sehingga diperoleh glukan kasar. Setelah kering glukan ditimbang untuk kemudian diukur beratnya dengan cara menghitung selisih berat kertas saring.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Laju pertumbuhan tertinggi pada perlakuan kecepatan agitasi 80 rpm, 120 rpm, 200 rpm masing-masing sebesar 0,237 sel ml-1/jam, 0,243 sel ml-1/jam, 0,323 sel ml-1/jam. Dengan demikian, semakin besarnya putaran per menit pada proses agitasi, maka laju pertumbuhan sel akan semakin tinggi. Pertambahan jumlah glukan seiring dengan pertambahan jumlah sel, hal ini menunjukkan bahwa glukan merupakan metabolit primer yang menyusun dinding sel (Griffin, 1993).

Nilai pH masing-masing perlakuan menunjukkan pola yang sama yaitu mengalami penurunan sepanjang proses fermentasi kemudian terjadi peningkatan pada saat menjelang akhir fermentasi (16 jam waktu fermentasi). Pada pengukuran konsentrasi glukosa dan protein, keduanya memiliki pola yang serupa yaitu terjadi penurunan selama fermentasi berlangsung. Laju penurunan pada glukosa jauh lebih tinggi dibandingkan laju penurunan pada protein. Hal ini disebabkan telah terjadi penggunaan kedua substrat tersebut sebagai nutrient pertumbuhan bagi ragi. Glukosa yang merupakan monosakarida

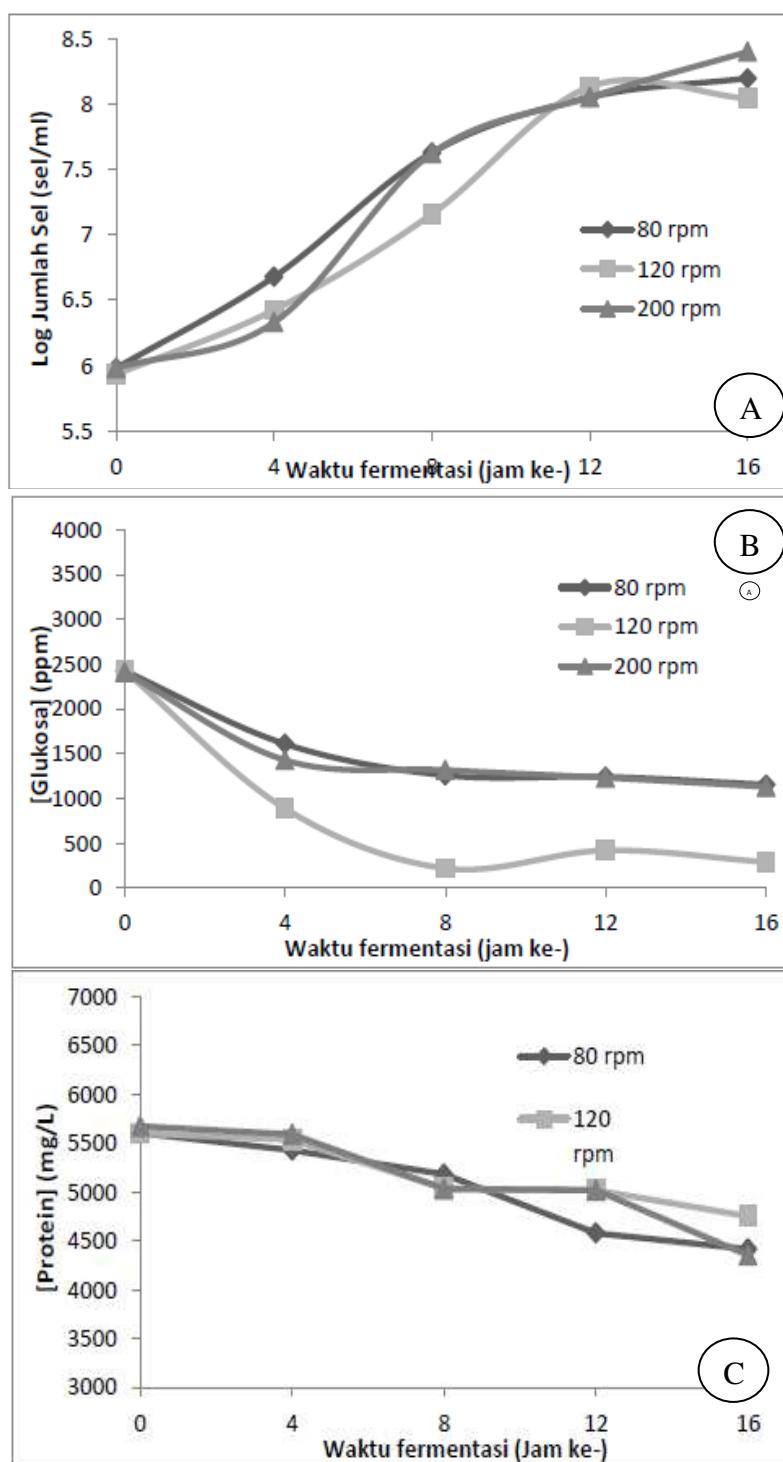
lebih mudah digunakan dibanding *yeast* dan pepton sebagai sumber protein.

Pada awal fermentasi masing-masing perlakuan memiliki kandungan β-glukan yang berbeda, seharusnya berada pada jumlah yang sama dikarenakan jumlah inokulum yang dinokulasikan sama yaitu 10⁶ sel/ml.

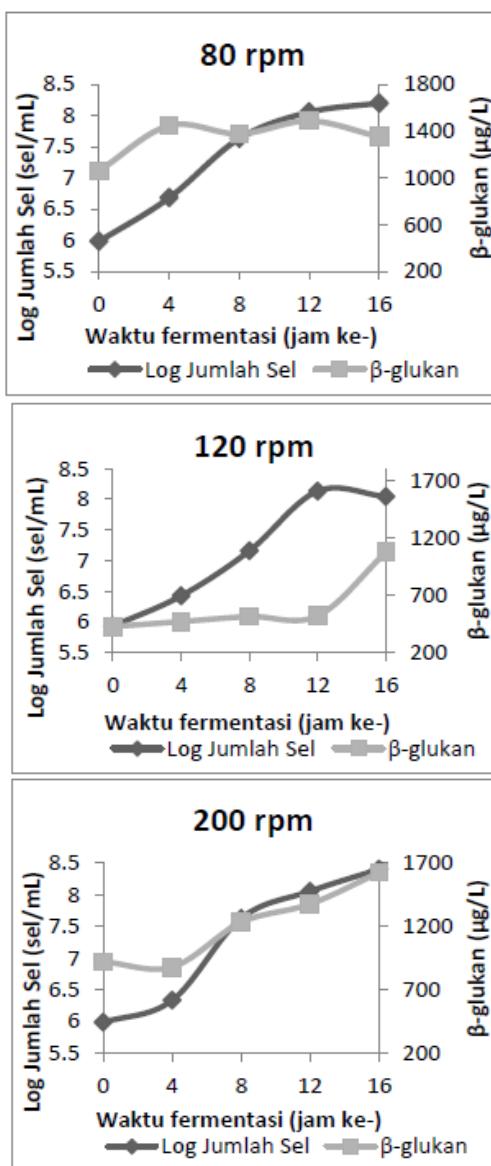
Terjadinya perbedaan ini dapat disebabkan telah terjadinya perubahan morfologis sel yang diakibatkan pengocokan dengan putaran per menit yang berbeda-beda. Secara visual, kecepatan agitasi 80 rpm ini memperlihatkan endapan berupa serabut yang disinyalir sebagai komponen sel terdegradasi, sedangkan pada 120 rpm dan 200 rpm tidak didapatkan hal tersebut. Pengocokan yang kurang homogen terjadi pada 80 rpm, hanya sebagian kecil dari keseluruhan kultur terkocok, sel yang mengendap mengakibatkan ruang gerak antar sel yang kecil sehingga kontak nutrien maupun oksigen menjadi tidak merata. Dari hal tersebut beberapa sel diantaranya mengalami kematian, kemudian komponen selnya terdegradasi dan dapat dimanfaatkan sebagai suplai nutrien untuk sel-sel yang masih hidup.

Terjadinya penurunan jumlah glukan dapat disebabkan oleh adanya pelepasan eksoenzim 1,3 β-D glukanase. Enzim 1,3 β-D glukanase ini merupakan enzim yang dapat mengkatalisis proses hidrolisis glukan (Aryani, 2001).

Laju pembentukan β-glukan rata-rata dari masing-masing perlakuan 80 rpm, 120 rpm dan 200 rpm yaitu 18,19 µgL⁻¹/jam, 40,42 µgL⁻¹/jam dan 44,03 µgL⁻¹/jam. Semakin tingginya putaran pada proses agitasi semakin besarnya laju pembentukan β-glukan. Berdasarkan hasil uji statistik menggunakan *one way* ANOVA yang dilanjutkan dengan analisis LSD (Sarwono, 2005) terhadap perlakuan kecepatan agitasi i, *P value* yang diperoleh yaitu 0,520 (*P*>0,05), sehingga *H₀* diterima.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *S. cerevisiae* (A), penurunan konsentrasi sumber karbon (B) dan penurunan konsentrasi sumber nitrogen



Gambar 2. Kurva perbandingan pembentukan β -glukan dan pertumbuhan sel pada variasi kecepatan agitasi 80 rpm, 120 rpm dan 200 rpm

Pada perlakuan kecepatan agitasi ini tidak terdapat perbedaan yang signifikan di antara perlakuan 80 rpm, 120 rpm dan 200 rpm. Dari hasil penelitian, produksi tertinggi dan laju pembentukan β -glukan tertinggi ada pada perlakuan kecepatan agitasi 200 rpm.

KESIMPULAN

β -glukan yang terbentuk semakin meningkat laju pembentukannya seiring dengan bertambahnya jumlah putaran per menit pada proses agitasi, 80 rpm, 120 rpm,

200 rpm dengan laju rata-rata sebesar $18,19 \mu\text{g L}^{-1}/\text{jam}$, $40,42 \mu\text{g L}^{-1}/\text{jam}$, $44,03 \mu\text{g L}^{-1}/\text{jam}$. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa kecepatan agitasi optimum untuk menghasilkan β -glukan adalah 200 rpm dengan kandungan β -glukan sebesar $1624,44 \mu\text{g L}^{-1}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryani, D. (2001). Analisis kualitatif keberadaan eksoenzim 1,3 -D glukanase dari miselium Ganoderma tropicum menggunakan elektroforesis PAGE.

- Skripsi Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Black, B. (1999). *Microbiology Principle and Exploration*. Prentice Hall. New Jersey.
- Cabib, E. A. (2001). The yeast cell wall and septum as paradigms of cell growth and morphogenesis. *J Biol Chem*, 276, 19679-19682.
- Cempaka, L., Aryantha, I. N. P. (2014). Effect of Glucose Concentration on the Production of β -Glucan by *Saccharomyces cerevisiae*. *The 2nd Asian-Australasian Dairy Goat Conference* (p. 202). Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University. Bogor.
- Griffin, D. (1993). *Fungal physiology*, 2nd ed. Wiley-Liss, Inc. United States of America.
- Lee, J. L. H. E. (2001). Purification of soluble β -Glucan with immuno-enhancing activity from the cell wall of yeast. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 65 (4), 837-841.
- Lesage, G., Bussey H. (2006). Cell Wall Assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and molecular biology reviews*, 317-343.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. (2006). *Brock: Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, International, Inc. London.
- Pelczar, M. J. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI-Press. Jakarta.
- Reclavsky. (1998). Signalling towards cell wall synthesis in budding yeast. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med*, 141, 7-14.
- Sarwono, J. (2009). *Statistik itu mudah: panduan lengkap untuk belajar komputasi statistik menggunakan SPSS 16*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Thontowi, A. K. (2007). Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor. *Biodiversitas*, 253-256.