

Isolasi, Identifikasi dan Uji Produksi *Yeast* yang Diisolasi Dari Nira Kelapa

Dhanang Puspita*, Elisabeth Nadia, Erika Immanuela, MC. Titania
Teknologi Pangan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Satya
Wacana
Jl. Kartini No. 11 A Salatiga, 50711 Telp 0298 321212
*E-mail: dhanang.puspita@uksw.edu

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan melakukan uji produksi *yeast* yang diisolasi dari nira kelapa. Metode yang dipakai adalah eksperimen laboratoris dengan tahapan; isolasi dan identifikasi *yeast* dan uji produktifitas *yeast*. Isolat *yeast* diperoleh dari *yeast* liar pada nira kelapa dan pengucilan dengan medium *potato dextrose agar*. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan morfologi dengan mikroskop pada perbesaran 1600 \times . Pengukuran biomasa dengan menggunakan metode hitung angka lempeng total, mikroskopis, dan spektrofotometer. Pengukuran kadar alkohol dilakukan dengan destilasi menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Dari hasil penelitian diperoleh isolat murni *yeast* yang secara morfologi memiliki kesamaan dengan genus *Saccharomyces*. Berdasarkan uji produksi isolat *yeast* memiliki fase pertumbuhan logaritmik (0 – 7 jam), eksponensial (7 – 9 jam), dan stasioner (9 – 12 jam). Isolat juga mampu menghasilkan alkohol sebesar $\pm 6,8\%$.

Kata kunci: alkohol, isolasi, nira kelapa, yeast.

Abstract

The purpose of this study is to isolate, identify, and test yeast production isolated from palm wine. The method used is a laboratory experiment with stages of yeast isolation and identification, and yeast productivity testing. Yeast isolates were obtained from wild yeast on palm wine and isolating with potato dextrose agar medium. Identification was done by morphological observation under a microscope at 1600 \times magnification. Measurement of biomass using the method of calculating total plate counts, microscopic, and spectrophotometers. Measurement of alcohol content by distillation using a rotary vacuum evaporator. The results obtained from pure yeast isolates which morphologically have similarities with the genus *Saccharomyces*. Based on the production test yeast isolates have a logarithmic growth phase (0 – 7 hours), exponential (7 – 9 hours), and stationary (9 – 12 hours). Isolates are also able to produce alcohol of $\pm 6.8\%$.

Keywords: alcohol, isolation, palm wine, yeast.

I. PENDAHULUAN

Yeast atau khamir adalah fungi uniseluler yang bersifat mikroskopik. Sel *yeast* memiliki ukuran yang berbeda-beda yaitu dengan panjang 5 – 20 μm dan lebar 1 – 10 μm . Bentuk sel *yeast* juga bermacam-macam yaitu ada kokus, silindris, basil, dan apikulat. *Yeast* tumbuh paling baik pada kondisi dengan cukup persediaan air karena *yeast* dapat tumbuh pada medium konsentrasi solut (gula atau garam)

lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri. Jenis *yeast* tertentu memiliki persyaratan aktivitas air yang rendah yaitu termasuk ke dalam osmofilik (Fardiaz, 1992). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan *yeast* penghasil enzim ekstrakululer yang berpotensi dan memiliki morfologi dan fisiologi yang membedakannya dari mikroorganisme lainnya (Kustyawati dkk, 2013). Karakteristik *Saccharomyces cerevisiae* memiliki kemiripan dengan *Candida tropicalis*, dengan ciri-ciri berwarna putih, menonjol,

berbentuk kokus, dan permukannya yang mengkilap, halus, serta licin (Talaro dkk, 2012).

Saccharomyces cerevisiae paling umum digunakan dalam industri makanan terutama dalam pembuatan roti dan produksi minuman beralkohol (Fardiaz, 1992). Pada pembuatan roti, *Saccharomyces cerevisiae* berperan sebagai penghasil gas yang akan mengembangkan adonan agar bentuk roti menjadi mengembang dan berpori-pori. *Saccharomyces cerevisiae* mengandung enzim maltase yang mengubah maltosa menjadi glukosa. Pada pembuatan minuman beralkohol, *Saccharomyces cerevisiae* akan mengubah glukosa menjadi etanol, CO₂, dan sedikit bahan-bahan aromatik yang menguap pada hasil akhir. Untuk jenis pembuatan minuman beralkohol ini dibedakan berdasarkan bahan baku yang digunakan, apabila bahan bakunya berupa *malt* maka produknya adalah *beer*, sedangkan jika bahan bakunya dari anggur adalah *wine* (Muchtadi dkk, 2010).

Saccharomyces cerevisiae dapat ditemukan di alam bebas terutama di tanah dan memegang peran penting dalam hidrolisis selulosa pada tanah. (Kanti, 2007). Selain ditemukan di alam bebas *Saccharomyces cerevisiae* juga ditemukan pada buah-buahan, salah satunya ditemukan pada nira kelapa. Nira kelapa merupakan cairan bening yang berasal dari bunga kelapa dan aren yang pucuknya belum membuka. Biasanya nira kelapa digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula merah. Dalam keadaan segar nira kelapa memiliki rasa yang manis, bau yang khas dan tidak memiliki warna. Oleh karena itu nira menjadi habitat yang ideal bagi mikroorganisme, yang nantinya berpotensi menyebabkan kerusakan dan perubahan sifat-sifat pada nira. Nira sendiri mudah mengalami fermentasi karena nira memiliki ragi liar yang bersifat sangat aktif yang dapat memecahkan sukrosa menjadi asam asetat atau etanol (Budiyanto, 2012). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan melakukan uji produksi *yeast* yang diisolasi dari nira kelapa.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan sifat eksperimen laboratoris di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Dasar Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UKSW, pada Februari 2020. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; cawan petri (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), pipet tetes, autoclave (All American), mikroskop (YaXSZ-107BN), timbangan digital (Acis BC 5000), hotplate dan magnetic stirrer (Ika C Mag as 4), spektrofotometer (UV-VIS genesys 10S), rotary vacuum evaporator (dLab), dan enkas. Bahan-bahan yang digunakan adalah Potato Dextrosa Agar (PDA) (KGaA), air nira kelapa, dan aquadest. Tahapan kerja meliputi; isolasi yeast dan uji produktifitas yeast.

Isolasi Yeast

PDA ditimbang sebanyak 10,5 gr lalu ditambahkan aquadest sebanyak 250 mL kemudian dihomogenkan di hotplate. Setelah itu disterilisasi dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dituangkan ke cawan petri secara aseptis. PDA agar kemudian digores dengan air nira dengan menggunakan jarum ose, lalu diinkubasi pada suhu 27°C di inkubator selama 48 jam. Setelah itu akan terlihat koloni secara terpisah. Koloni diamati dengan menggunakan mikroskop untuk melihat bentuk sel. Apabila ada sel yang mirip dengan bentuk yeast sisanya akan dicuplik dan dipundahkan dalam agar miring.

Uji Produksi Yeast

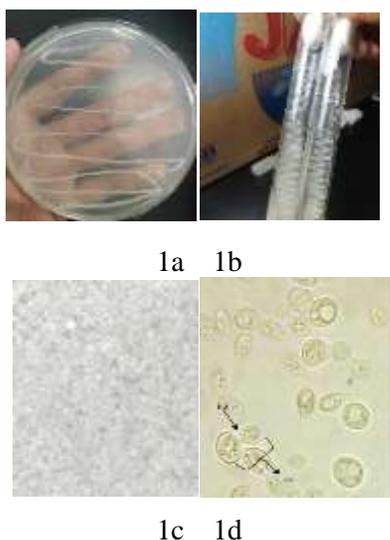
Sebanyak 250 mL aquades dalam erlenmeyer ditambah 2,5 gr yeast ekstrak dan 25 gr glukosa lalu dihomogenkan dan setelah itu disterilisasi dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin kemudian ditambahkan kultur murni yeast, lalu diinkubasi dalam suhu ruang dan dikondisikan homogen dalam magnetik stirer. Uji pertumbuhan dilakukan uji petik setiap satu jam kemudian dianalisis dengan; mikroskop, TPC, dan Spektrofotometer (λ 660 nm). Pola pertumbuhan dilihat sampai pada fase stasioner.

Uji produktifitas yeast dalam fermentasi dilakukan dengan membuat larutan gula 10%

sebagai media fermentasi, lalu dimasukan prekultur *yeast* 10% dalam media fermentasi dan diinkubasi secara anaerob sampai tidak ada lagi aktifitas fermentasi. Pemisahan hasil fermentasi dilakukan dalam *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 60°C selama 15 menit. Hasil evaporasi kemudian dihitung untuk melihat persen kadar alkohol.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Nira kelapa berpotensi sebagai sumber isolat *yeast*, ditandai dengan mudah rusaknya nira kelapa menjadi masam dan berbuih karena aktifitas fermentasi mikroba. Hasil isolasi dari nira kelapa dihasilkan isolat *yeast* seperti ditunjukan pada gambar 1. Pada gambar 1a adalah bentuk koloni *yeast* yang diisolasi dalam media PDA. Gambar 1b adalah kultur murni dari *yeast*, sedangkan gambar 1c adalah morfologi yang *yeast* yang identik dengan gambar pustaka 1d.



Gambar 1. Isolasi *yeast*.

Pertumbuhan *yeast* dapat dilihat pada tabel 1. Pada tabel tersebut dihitung pertumbuhan *yeast* dengan menggunakan 3 teknik yakni TPC, mikroskopis, dan spektrofotometer. Dari hasil perhitungan dengan 3 teknik memiliki pola yang sama yang ditunjukan pada gambar 2. Pola pertumbuhan mengikuti fase logaritmik, eksponensial, dan stasioner.

Tabel 1. Laju pertumbuhan *yeast*.

t (jam)	TPC 10 ³ (CFU/mL)	Mikroskop (sel/ml)	Spektrofotometer (sel/ml)
0	58	0	0,07805
1	104	160	0,0276
2	106	200	0,047175
3	109	760	0,125425
4	119	800	0,295
5	112	1000	0,6037
6	165	1240	0,995
7	218	1200	1,145
8	284	1120	1,245
9	324	3680	2,04935
10	311	2880	1,399375
11	309	3000	1,442825

Untuk mengetahui produktifitas *yeast* dalam mengkonversi gula menjadi alkohol dilakukan uji produksi. Hasil uji produksi ditunjukan pada tabel 2, dimana hasil evaporasi alkohol dihasilkan 34 mL dari total volume 500 mL, sehingga dapat dihitung konsentrasi alkohol ±6,8%.

Tabel 2. Uji Produksi alkohol oleh *yeast*.

Aquades (mL)	Gula (gram)	Hasil Evaporasi (mL)	Kadar Alkohol (%)
500	50	34	±6,8

Isolasi *Yeast*

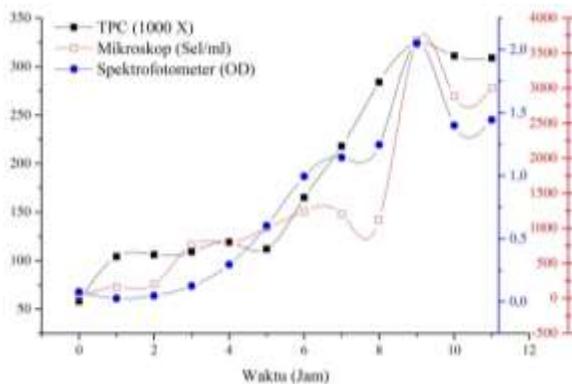
Untuk mendapatkan kultur murni *yeast* dapat dilakukan dengan isolasi langsung dari sumbernya, salah satunya adalah nira kelapa. Isolasi *yeast* dilakukan dengan menggoreskan jarum ose pada media PDA secara aseptis kemudian diinkubasi selama 48 jam. Koloni-koloni *yeast* ditandai dengan warna putih. Untuk mengkonfirmasi koloni tersebut adalah *yeast* perlu dilakukan uji petik dengan menggores koloni dan diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1.600×. Bentuk morfologi *yeast* berbeda dengan bakteri, karena *yeast* memiliki ukuran yang jauh lebih besar yakni 5 – 20 µm sedangkan bakteri 1 – 10 µm. *Yeast* juga memiliki bentuk yang khas (gambar 1d), yakni adanya tunas sebagai bentuk regenerasinya dan berbeda dengan bakteri yang membelah diri.

Dari hasil pengamatan morfologi akan dapat diputuskan koloni mana yang merupakan *yeast*. Koloni yang sudah dikonfirmasi sebagai *yeast* kemudian dipindahkan dalam agar miring

(gambar 1b) yang bertujuan sebagai media penyimpanan kultur murni. Dalam agar miring, kultur murni dapat disimpan hingga 2 – 3 bulan dalam lemari pendingin, dan setelah itu dapat diremajakan kembali. Kultur murni *yeast* selanjutnya dapat digunakan untuk analisis produktifitas biomassa dan produktifitas produksi alkohol.

Produktifitas Yeast

Untuk mengetahui produktifitas *yeast* perlu dilakukan uji produktifitas biomassa dan produksi alkohol. Produktifitas biomassa adalah kemampuan *yeast* dalam meregenerasi selnya. Semakin cepat *yeast* meregenerasi maka produktifitasnya tinggi, seperti yang ditunjukkan pada tabel 1 dan gambar 3. Produktifitas biomassa dihitung kecepatan pertumbuhan *yeast*. Terdapat 4 fase pertumbuhan yakni logaritmik, eksponensial, dan stasioner.



Gambar 3. Pola pertumbuhan yeast.

Pola pertumbuhan *yeast* yang dihitung dengan TPC, mikroskop, dan spektrofotometer seperti ditunjukkan gambar 3 memiliki kemiripan dalam fase-fase pertumbuhannya. Fase logaritmik terjadi pada jam ke 0 – 7 yang ditandai pola yang naik turun. Pola ini disebabkan karena *yeast* sedang menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya dan membutuhkan waktu 7 jam. Pada jam ke 7 – 9, pertumbuhan *yeast* mencapai laju yang tinggi atau fase eksponensial. Pada jam ke 9 – 12 terjadi fase stasioner, yakni *yeast* tidak lagi mengalami penambahan biomassa ditandai garis lurus cenderung menurun.

Fase-fase pertumbuhan *yeast* ini diperlukan untuk menjadi acuan dalam pengambilan keputusan berkaitan dengan pemanfaatan *yeast* untuk produksi alkohol atau nantinya digunakan sebagai *single cell protein* (SCP) dan produksi biomassa sebagai kultur. *Yeast* yang digunakan sebagai prekultur untuk produksi etanol atau kultur akan diambil pada fase eksponensial, yakni saat terjadi puncak pertumbuhan maksimal. Dengan demikian akan diperoleh biomassa dalam jumlah yang banyak. Pada produksi *single cell protein* akan dipanen saat *yeast* mengalami pertumbuhan pada fase stasioner, dimana pertumbuhan sudah berhenti.

Untuk mengetahui kemampuan *yeast* dalam memproduksi alkohol perlu dilakukan uji fermentasi. Dari tabel 2 diperoleh, jika *yeast* menghasilkan etanol sebesar $\pm 6,8\%$. Jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Sintha (2008) didapatkan hasil bahwa dari 50 gr gula di dalam 500 mL aquades dapat menghasilkan etanol sebesar 46,5 mL atau setara dengan 9,3% sebelum proses destilasi. Produktifitas produksi etanol dikatakan tinggi jika mampu memproduksi minimal 10% alkohol, dan dibawah itu masih dalam kategori rendah, namun Reis dkk (2013) mengatakan produksi alkohol 6 – 11% termasuk kategori tinggi. Untuk meningkatkan kemampuan dalam memproduksi alkohol dapat dilakukan dengan mengadaptasikan *yeast* dengan berbagai perlakuan hingga nantinya akan didapatkan hasil yang optimal.

Upaya optimasi lingkungan tumbuh mikroba selama fermentasi dapat dilakukan dengan cara mengkondisikan/adaptasi kultur pada kondisi optimum pertumbuhan mikroba dengan menggunakan bioreaktor selama proses fermentasi (Jayus dkk, 2016). Adaptasi yang dilakukan dapat dengan mencari suhu yang optimal, sumber N dan C yang tepat, media yang tepat dan lain sebagainya. Meskipun dengan produktifitas alkohol $\pm 6,8\%$, maka *yeast* ini sudah bisa digunakan untuk produksi minuman dengan kadar alkohol yang rendah.

IV. KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolasi *yeast* dapat diperoleh dari nira kelapa. Hasil identifikasi *yeast* yang disolasi adalah

genus *Saccharomyces* sp. Fase pertumbuhan pada isolat; logaritmik (0 – 7 jam), eksponensial (7 – 9 jam), dan stasioner (9 – 12 jam). Produktifitas dalam menghasilkan alkohol sebesar $\pm 6,8\%$.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiyanto. (2012). *Efektivitas Nira Aren sebagai Bahan Pengembang Adonan Roti*. Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea. Vol 1 (1): 26-35
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Jayus, J., Noorvita, I.V., Nurhayati. (2016). *Produksi Bioetanol oleh Saccharomyces Cerevisiae Fnc 3210 pada Media Molases dengan Kecepatan Agitasi dan Aerasi yang Berbeda*. Jurnal Agroteknologi Vol.10(02): 184 - 192.
- Kanti. (2007). *Penapisan Khamir Selulolitik Cryptococcus sp yang diisolasi dari Tanah Kebun Biologi Wamena Jaya Wijaya Provinsi Papua*. Jurnal Penelitian Bidang Mikrobiologi. Bogor: Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Kustyawati, M. E., Merlia, Sari., Haryati, Teti. (2013). *Efek Fermentasi dengan Saccharomyces caravisiae terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka*. Jurnal Agritech. Vol 33 (3).
- Muchtadi, Tien R., Ayustaningwarno Fitriyono. (2010). *Teknologi Proses Pengolahan Pangan*. Bandung: Alfabeta.
- Reis, V.R., Bassi, A.P.G., da Silva, J.C.G., Ceccato-Antonini, S.R. (2013). *Characteristics of Saccharomyces cerevisiae yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation*. Brazilian Journal of Microbiology. Vol.44(4):1121-1131.
- Sintha, S. Santi. (2008). *Pembuatan Alkohol Dengan Proses Fermentasi Buah Jambu Mete Oleh Khamir Saccharomyces cerevisiae*. Jurnal Penelitian Ilmu Teknik. Vol 8 (2): 104-111.
- Talaro K. P., Chess, B. (2012). *Foundation in Microbiology*. New York: McHraw-Hill.