

Produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter

Production of yeast cells R1 and R2 biomass using sweet potato and cassava extract substrates in fermentor type air-lift scale 18 liters

WIWIN UNDARI¹, ARI SUSILOWATI¹, IRAWAN SUGORO²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

²Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi-Badan Tenaga Nuklir Nasional (PATIR-BATAN), Jakarta Selatan 12630, Jakarta

Manuskrip diterima: 16 Desember 2007. Revisi disetujui: 28 Februari 2008.

Abstract. Undari W, Susilowati A, Sugoro I. 2008. Production of yeast cells R1 and R2 biomass using sweet potato and cassava extract substrates in fermentor type air-lift scale 18 liters. *Biofarmasi* 6: 8-15. Increasing production and quality of meat and milk can be done by attention to nutrition, reproduction health, and livestock management. This research was conducted with the following objectives: (i) to determine the difference of production of biomass of yeast cell R1 by using sweet potato and cassava extract substrates in fermentor type air-lift scales 18 liters with R2; (ii) to determine the difference of production rate of biomass of yeast cell R1 by using sweet potato and cassava extract in fermentor type air-lift scales 18 liters and the consumption of glucose with R2; (iii) to determine the difference of yield x/s of yeast cell R1 by using sweet potato and cassava extract substrates in fermentor type air-lift scales 18 liters with R2; and (iv) to determine the difference of production efficiency of biomass of yeast cell R1 by using sweet potato and cassava extract substances in fermentor type air-lift scales 18 liters with R2. The research was conducted in July-September 2006 at the Nutrition, Reproduction and Wellness Laboratory of the Center for Applications of Isotope and Radiation Technology - National Nuclear Energy Agency (PATIR-BATAN), South Jakarta. Based on the research results, it can be determined that the production of yeast cells R1 and R2 biomass on sweet potato and cassava extract substrate were 0.65 g/L, 0.83g/L, 0.63 g/L, and 0.88 g/L, respectively. There was no significant difference in biomass production between yeast R1 and R2, either sweet potato or cassava extract. The production rate of biomass of yeast cell R1 and R2 and the consumption of glucose on sweet potato and cassava extract substrates were 0.04 g/L/day and 0.86 g/L/day, respectively; 0.06 g/L/day and 0.51 g/L/day, respectively; 0.05 g/L/day and 0.19 g/L/day, respectively; 0.08 g/L/day and 0.28 g/L/day, respectively. The biomass production and glucose consumption rate between yeast R1 and R2 showed no significant difference on sweet potato and cassava extract substrates. The yield x/s of yeast R1 and R2 on sweet potato and cassava extract substrates were 0.43 g/g, 0.61 g/g, 0.29 g/g, and 0.31 g/g, respectively. The yield x/s between yeast R1 and R2 showed no significant difference on sweet potato and cassava extract substrates. The production efficiency of biomass of yeast cells R1 and R2 on sweet potato and cassava extract substrates were 86.23%, 122.34%, 57.46%, and 61.18%, respectively. The biomass production efficiency between yeast R1 and R2 showed no significant difference, both on sweet potato and cassava extract substrates.

Keywords: Biomass, cassava, fermentor, sweet potato, yeast

PENDAHULUAN

Pertumbuhan penduduk Indonesia terus meningkat. Kebutuhan daging dan susu yang berasal dari ternak ruminansia, seperti sapi dan kambing, juga terus meningkat sebanding dengan meningkatnya populasi manusia. Peningkatan produksi dan kualitas daging dan susu dapat dilakukan diantaranya dengan memperhatikan nutrisi, reproduksi, dan kesehatan serta manajemen ternak (Saragih 2000). Salah satu cara peningkatan produksi dan kualitas daging dan susu yaitu dengan menggunakan suplemen atau pakan tambahan. Pemberian suplemen dapat berupa pakan tambahan dalam bentuk nutrisi atau pemberian probiotik (Sugoro dan Pikoli 2004).

Probiotik merupakan kultur tunggal atau campuran dari mikroorganisme hidup yang dikonsumsi oleh manusia atau

hewan, bermanfaat bagi inang (manusia dan hewan) dengan cara menjaga keseimbangan mikroflora usus (Fuller 1992; Havenaar dan Joss 1992). Mikroorganisme yang umum digunakan sebagai bahan probiotik untuk ternak ruminansia adalah khamir. Khamir digunakan untuk mengurangi pengaruh negatif mikroorganisme lain yang berbahaya dan menstimulasi pertumbuhan mikroorganisme yang menguntungkan (Deacon 1997).

Khamir sebagai bahan probiotik berperan untuk meningkatkan metabolisme di dalam rumen (Sugoro et al. 2005). Suplementasi khamir di dalam rumen berfungsi meningkatkan populasi bakteri selulolitik yang berperan untuk mencerna bahan makanan yang mengandung serat. Degradasi serat oleh bakteri selulolitik akan meningkatkan kandungan *Volatile Fatty Acid* (VFA) di dalam rumen. Khamir menghasilkan asam malat yang berperan sebagai faktor pertumbuhan bagi bakteri pengguna laktat sehingga

akan mengubah keasaman dalam cairan rumen serta menstimulasi penggunaan hidrogen oleh bakteri asetogenik.

Khamir pada umumnya sangat mudah diisolasi dari habitatnya (Spencer dan Spencer 1997). Khamir R1 dan R2 sebagai bahan probiotik untuk ternak ruminansia diisolasi dari cairan rumen kerbau. Isolat tersebut merupakan isolat yang paling dominan di dalam cairan rumen kerbau. Isolasi khamir dari cairan rumen bertujuan untuk memudahkan dalam pengaplikasiannya karena khamir telah beradaptasi dalam cairan rumen sebelumnya. Seleksi isolat khamir yang memiliki kemampuan sebagai bahan probiotik untuk ternak ruminansia antara lain dapat dilihat dari pertumbuhan khamir dalam cairan rumen steril, produksi gas, penurunan pH, dan peningkatan produksi VFA (Sugoro dan Pikoli 2004).

Dalam pengembangan penelitian khamir R1 dan R2 sebagai bahan probiotik untuk ternak ruminansia, diperlukan peningkatan skala menuju produksi dalam skala yang lebih besar. Produksi biomassa khamir dalam skala besar tidak dapat dilakukan secara langsung dari volume kecil ke volume besar karena dapat mempengaruhi kemampuan metabolisme dan pertumbuhan sel khamir.

Produksi dalam skala besar bertujuan untuk mendapatkan biomassa sel khamir R1 dan R2 sebanyak-banyaknya dengan bahan semurah mungkin dan memiliki efisiensi yang tinggi. Tujuan penelitian produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dalam skala fermentor adalah diperolehnya metode produksi di lapangan yang tepat dan efisien dengan biaya yang murah, sehingga peternak ruminansia dapat memproduksi biomassa sel khamir sebagai bahan probiotik untuk ternak mereka.

Produksi dalam skala besar memerlukan bahan-bahan yang semurah mungkin untuk menghasilkan produk yang diinginkan sebanyak-banyaknya (Pelczar dan Chan 1988). Penggunaan bahan yang semurah mungkin dilakukan dengan menggunakan bahan untuk substrat pertumbuhan khamir R1 dan R2 dengan harga murah tetapi mengandung karbohidrat tinggi. Bahan berkarbohidrat tinggi yang sering digunakan sebagai bahan untuk substrat pertumbuhan khamir R1 dan R2 adalah ekstrak kentang, tetapi karena harganya yang cukup mahal maka diperlukan alternatif bahan yang lain. Alternatif bahan untuk substrat pertumbuhan khamir R1 dan R2 adalah ekstrak ubi jalar dan ubi kayu. Selain harganya yang cukup murah dan mudah didapat, ubi jalar dan ubi kayu mengandung banyak karbohidrat (Rubatzky dan Mas 1998) yang diperlukan untuk pertumbuhan khamir R1 dan R2.

Proses produksi biomassa sel khamir dalam skala besar dapat dilakukan dengan menggunakan fermentor. Fermentor merupakan tempat transformasi bahan baku menjadi produk yang diinginkan (Mc Neil dan Harvey 1990). Fermentor yang digunakan dalam produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 adalah fermentor tipe *air-lift*. Fermentor *air-lift* tidak menggunakan sistem agitasi mekanik. Pengadukan pada fermentor ini terjadi karena adanya sirkulasi udara (McNeil dan Harvey 1990). Fermentor tipe *air-lift* sesuai untuk memproduksi biomassa mikroorganisme uniseluler (Nedovic et al. 1999) dan dapat

menekan biaya produksi karena tidak adanya sistem agitasi secara mekanik.

Berdasarkan uraian tersebut maka diperlukan penelitian untuk mengetahui produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dengan menggunakan substrat ekstrak ubi kayu dan ubi jalar, serta untuk mengetahui efisiensi proses produksi biomassa sel khamir dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter.

Penelitian ini bertujuan untuk: (i) Mengetahui adanya perbedaan produksi biomassa sel khamir R1 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter dengan R2; (ii) Mengetahui adanya perbedaan laju produksi biomassa sel khamir R1 menggunakan ekstrak ubi jalar dan ubi kayu dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter dan konsumsi glukosa dengan R2; (iii) Mengetahui adanya perbedaan perolehan *yield x/s* sel khamir R1 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter dengan R2; serta (iv) Mengetahui adanya perbedaan efisiensi produksi biomassa sel khamir R1 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter dengan R2.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli-September 2006 di Laboratorium Nutrisi, Reproduksi dan Kesehatan Ternak, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi-Badan Tenaga Nuklir Nasional (PATIR-BATAN), Jakarta Selatan.

Alat dan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut. Isolat khamir R1 dan R2 diperoleh dari koleksi Laboratorium Nutrisi, Reproduksi dan Kesehatan Ternak, PATIR-BATAN sebagai kultur stok. Bahan baku pertumbuhan isolat khamir yaitu ubi kayu dan ubi jalar putih. Bahan untuk pembuatan PDA (*Potatoes Dextrose Agar*) yaitu kentang, dekstrosa, dan agar. Bahan untuk pembuatan PDB (*Potatoes Dextrose Broth*) yaitu kentang, dekstrosa, dan asam laktat 10%. Inokulum bertahap terdiri dari: 1) inokulum I yaitu dibuat dari sebanyak 3 ose isolat khamir R1 atau R2 dalam 30 ml PDB, 2) inokulum II yaitu 10^6 sel/ml isolat khamir R1 atau R2 dalam 30 ml ekstrak ubi jalar atau ubi kayu, 3) inokulum III yaitu 10^6 sel/ml isolat khamir R1 atau R2 dalam 300 ml ekstrak ubi jalar atau ubi kayu, dan 4) inokulum IV yaitu 10^6 sel/ml isolat khamir R1 atau R2 dalam 1 L ekstrak ubi jalar atau ubi kayu. Bahan kimia untuk pengukuran kadar glukosa yaitu larutan glukosa, natrium karbonat anhidrat, natrium kalium tartrat, natrium bikarbonat, natrium sulfat anhidrat, asam sulfat pekat, dan amonium molibdat. Bahan untuk sterilisasi antara lain alkohol 70%. Bahan-bahan lain yang diperlukan yaitu air panas, asam cuka 25% (DIXI), asam laktat 10%, akuades, kapas, dan *aluminium foil*.

Sementara itu, peralatan yang digunakan sebagai berikut. Alat untuk peremajaan kultur stok meliputi jarum ose, tabung reaksi, *laminar air flow* (LAF), dan *bunsen burner*. Alat untuk pembuatan PDA dan PDB meliputi

pisau, timbangan analitik (Sartorius AG Gotingen BP 2215), gelas beker, *magnetic stirrer*, *hotplate*, gelas ukur, dan kasa saring. Alat untuk pembuatan ekstrak ubi jalar dan ubi kayu meliputi pisau, timbangan, gelas ukur, gelas beker, *hotplate*, dan mikropipet. Alat untuk sterilisasi bahan dan peralatan meliputi autoklaf (Haiclave Hirayama) dan *sprayer*. Alat untuk pembuatan inokulum yaitu: 1) Inokulum I, meliputi erlenmeyer 100 ml, jarum ose, mikropipet, LAF, dan *incubator shaker*; 2) Inokulum II, meliputi erlenmeyer 100 ml, mikropipet 1000 ml, LAF, dan *incubator shaker*; 3) Inokulum III, meliputi erlenmeyer 500 ml, mikropipet 5000 ml, LAF, dan *incubator shaker*; 4) Inokulum IV, meliputi erlenmeyer 2000 ml, gelas ukur, LAF, dan *incubator shaker*. Alat untuk produksi bahan probiotik (fermentor tipe *air-lift* skala 18 L) meliputi dandang aluminium, kompor gas, gayung plastik, corong plastik, galon air 19 L, aerator, alat pelengkap fermentor (satu set leher angsa). Alat untuk menghitung jumlah sel meliputi mikroskop (Olympus CX 41), kamar hitung Neubauer, pipet pasteur, dan *counter*. Alat untuk pengambilan sampel meliputi pipet gondok, *dragball*, tabung sentrifus, rak tabung reaksi, *bunsen burner*, dan kertas label. Alat untuk mengukur pH yaitu pH-meter (Knick 765 Calimatic). Alat untuk mengukur bobot biomassa meliputi sentrifus (IEC Clinical), tabung sentrifus, oven (Fisher Model 350G), desikator, timbangan analitik (Sartorius AG Gotingen BP 2215), dan rak tabung reaksi. Alat untuk mengukur konsentrasi glukosa meliputi spektrofotometer (UV-Vis Hitachi model 100-50), kuvet, minivorteks, tabung reaksi, gelas beker, *hotplate*, kelereng, mikropipet, rak tabung reaksi, dan tisu.

Cara kerja

Pembuatan substrat pertumbuhan isolat khamir R1 dan R2

Pembuatan media PDA miring, Sebanyak 150 gram kentang yang telah dicuci dan dipotong-potong berbentuk dadu, direbus dalam 250 ml akuades selama 1 jam, kemudian disaring dengan kain kasa 4 lapis. Filtrat yang diperoleh ditambah dengan akuades hingga mencapai volume 500 ml, kemudian ditambah dengan 10 gram dekstrosa dan 7,5 gram agar sambil dididihkan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua bahan larut. Selanjutnya, larutan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi hingga mencapai sepertiga volume tabung reaksi. Tabung reaksi segera diposisikan miring pada suhu kamar dan dibiarkan selama 1 hari hingga media memadat (Bridson 1998).

Pembuatan substrat untuk inokulum I, Sebanyak 150 gram kentang yang telah dicuci dan dipotong-potong berbentuk dadu, direbus dalam 250 ml akuades selama 1 jam, kemudian disaring dengan kain kasa 4 lapis. Ekstrak yang diperoleh ditambah dengan akuades hingga mencapai volume 500 ml, kemudian ditambah dengan 10 gram dekstrosa sambil dididihkan dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua bahan larut. Selanjutnya, larutan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer masing-masing sebanyak 30 ml. Setelah larutan dingin, ke dalam

masing-masing erlenmeyer ditambahkan 0,33 ml asam laktat 10% steril secara aseptis (Bridson 1998).

Pembuatan substrat untuk inokulum II-IV, Substrat inokulum II-IV merupakan substrat pertumbuhan isolat khamir R1 dan R2 yang terbuat dari ekstrak ubi kayu atau ubi jalar berturut-turut dengan volume 30 ml, 300 ml, dan 1 L. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut. Ubi jalar dicuci kemudian dipotong-dipotong berbentuk dadu, lalu ditimbang sebanyak 300 g ubi jalar atau ubi kayu untuk tiap 1 L substrat, kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai setengah volume yang diinginkan, lalu direbus selama 1 jam. Rebusan ubi jalar disaring menggunakan kain kasa 4 lapis, lalu ditambahkan akuades hingga mencapai volume yang diinginkan. Ekstrak ubi jalar dimasukkan ke dalam erlenmeyer sesuai volume yang dibutuhkan. Ekstrak disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Sugoro dan Mellawati 2004). Prosedur yang sama juga dilakukan pada ubi kayu tanpa kulit.

Pembuatan substrat untuk produksi biomassa sel khamir R1 dan R2, Ubi jalar dicuci, kemudian dipotong-dipotong berbentuk dadu, lalu dimasukkan ke dalam dandang berisi 10 L air mendidih dan dipanaskan selama 20 menit. Rebusan ubi jalar dimasukkan ke dalam galon dengan cara disaring menggunakan kain kasa 4 lapis, lalu ditambahkan air mendidih hingga mencapai volume 18 liter. Prosedur yang sama juga dilakukan pada ubi kayu tanpa kulit.

Peremajaan isolat khamir R1 dan R2

Isolat khamir R1 dan R2 diperoleh dari koleksi Laboratorium Nutrisi, Reproduksi dan Kesehatan Ternak, PATIR, BATAN sebagai kultur stok. Peremajaan dilakukan dengan cara sebanyak 1 ose isolat khamir R1 dan R2 dari kultur stok diinokulasikan ke PDA miring, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 hari.

Pembuatan inokulum

Inokulum I, Inokulum I dibuat dengan cara menginokulasikan sebanyak 3 ose isolat khamir R1 dari media PDA miring berumur 1 hari ke dalam 30 ml PDB. Kultur diinkubasi pada *incubator shaker* pada suhu kamar dengan agitasi 120 rpm selama 1 hari. Selanjutnya, jumlah sel dihitung dengan metode penghitungan mikroskopis langsung. Hasil penghitungan jumlah sel digunakan untuk mengetahui volume inokulum yang akan diinokulasikan ke dalam tahapan inokulum selanjutnya. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk isolat khamir R2.

Cara penghitungan volume yang akan diinokulasikan sebagai berikut:

$$(V_n)(X_n) = (10\% V_{n'}) (10^6 \text{ sel/ml})$$

Keterangan:

V_n = volume inokulum yang akan diinokulasikan

X_n = jumlah sel inokulum

$V_{n'}$ = volume kultur yang akan diinokulasi

Inokulum II-IV, Inokulum II-IV dibuat dengan cara menginokulasikan isolat khamir sebanyak volume yang telah dihitung dari tahapan inokulum sebelumnya, kemudian diinkubasi pada suhu kamar dengan agitasi 120 rpm. Inokulum II diinkubasi selama satu hari, inokulum III

diinkubasi selama 2 hari, dan inokulum IV diinkubasi selama 4 hari.

Produksi biomassa pada fermentor tipe air-lift skala 18 liter

Sebanyak volume yang telah dihitung dari inokulum IV diinokulasikan ke dalam 18 L ekstrak ubi jalar atau ubi kayu di dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter kemudian diinkubasi dengan menggunakan aliran udara sebagai pengaduk. Aerator yang digunakan memiliki kecepatan 0,5 L/menit, sehingga pada fermentor tersebut memiliki kecepatan aerasi $0,03 \text{ vv}^{-1}\text{m}^{-1}$.

Pengambilan data

Pengambilan sampel dilakukan setiap 24 jam sekali. Sampel diambil sebanyak ± 13 ml untuk menentukan nilai pH, bobot biomassa, dan konsentrasi glukosa dalam substrat. Nilai pH diukur menggunakan pH-meter. Bobot biomassa dihitung dengan cara mensentrifus 10 ml sampel, kemudian padatan dikeringkan dalam oven selama 12 jam, lalu dimasukkan ke dalam desikator selama 1 jam, selanjutnya ditimbang bobot biomasanya.

Supernatan hasil sentrifugasi digunakan sebagai sampel untuk pengukuran konsentrasi glukosa yang dianalisis dengan metode Somogyi-Nelson. Laju produksi biomassa dinyatakan dalam perubahan produksi biomassa tiap hari.

$$P_n = \frac{(B_n) - (B_{n-1})}{t}$$

Keterangan:

P_n = laju produksi biomassa pada hari ke-n (g/L/hari)

B_n = produksi biomassa pada hari ke-n (g/L)

t = waktu (hari)

Laju konsumsi glukosa dinyatakan dalam perubahan konsentrasi glukosa tiap harinya.

$$K_n = \frac{(G_n) - (G_{n-1})}{t}$$

Keterangan:

K_n = laju konsumsi glukosa pada hari ke-n (g/L/hari)

G_n = konsentrasi glukosa pada hari ke-n (g/L)

t = waktu (hari)

Perolehan *yield x/s* dihitung dengan membandingkan jumlah biomassa yang terbentuk dengan jumlah glukosa yang dikonsumsi.

$$Y_{x/s} = \frac{dX}{dS}$$

Keterangan:

$Y_{x/s}$ = *yield x/s*

dX = jumlah biomassa yang terbentuk (g)

dS = jumlah glukosa yang dikonsumsi (g)

Efisiensi produksi biomassa dihitung dengan membandingkan perolehan *yield x/s* hasil penelitian dengan nilai konversi teoritisnya yaitu *yield Saccharomyces cerevisiae* dalam substrat glukosa sebesar 0,5 g/g dalam satuan persen.

$$E = \frac{Y_{x/s}}{0,5} \times 100\%$$

Keterangan:

E = efisiensi (%)

$Y_{x/s}$ = *Yield x/s* hasil penelitian (g/g).

Analisis data

Data produksi biomassa, laju produksi biomassa dan konsumsi glukosa, perolehan *yield x/s*, dan efisiensi produksi diuji menggunakan uji T untuk dua sampel bebas (*independent sample T Test*) untuk mengetahui adanya perbedaan pada parameter produk biomassa, laju produksi biomassa dan konsumsi glukosa, perolehan *yield x/s*, dan efisiensi produksi biomassa antara khamir R1 dan R2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan produksi biomassa sel khamir R1 dan R2. Khamir R1 dan R2 merupakan isolat khamir yang paling dominan hasil isolasi dari cairan rumen kerbau (Sugoro et al. 2005). Bahan baku yang digunakan untuk produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 adalah ubi jalar dan ubi kayu. Bahan tersebut digunakan sebagai substrat pertumbuhan sel khamir R1 dan R2 karena adanya kandungan gula di dalam umbi. Ubi jalar atau ubi kayu yang digunakan masing-masing sebanyak 300 g untuk tiap 1 L substrat. Takaran tersebut sesuai dengan penelitian Sugoro dan Mellawati (2004). Hal ini sesuai pada pembuatan PDA untuk pembuatan substrat dalam Bridson (1998) dengan menggunakan bahan kentang.

Pembuatan substrat dilakukan dengan merebus ubi kayu atau ubi jalar menggunakan air. Tahapan ini bertujuan untuk memperoleh gula dari ubi kayu atau ubi jalar. Tahapan pemisahan larutan ekstrak dari rafinat dilakukan dengan cara filtrasi menggunakan kain kasa 4 lapis. Larutan ekstrak inilah yang digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan khamir R1 dan R2.

Produksi biomassa khamir dalam skala besar tidak dapat dilakukan secara langsung dari volume kecil ke volume besar. Pada penelitian ini, inokulum dibuat dalam 4 tahapan yaitu inokulum I, II, III, dan IV. Peningkatan volume pada keempat tahapan inokulum tersebut berturut-turut 30 ml PDB, 30 ml, 300 ml, dan 1 L ekstrak ubi jalar atau ubi kayu.

Sesuai dengan penelitian Sugoro dan Mellawati (2004), inokulum yang diinokulasikan ke dalam substrat sebesar 10% (v/v). Rajoka et al. (2006) dalam penelitiannya menggunakan *Candida utilis* dengan memindahkan 10% (v/v) inokulum substrat produksi. Pada penelitian ini, volume inokulum yang digunakan adalah 10% (v/v) untuk 10^6 sel/ml inokulum. Produksi dilakukan dengan menggunakan fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter. Dari fermentor tersebut dianalisis produksi biomassa, laju rata-rata produksi biomassa dan konsumsi glukosa, perolehan *yield x/s*, serta efisiensi produksi biomassa.

Produksi biomassa sel khamir R1 dan R2

Produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dalam substrat ekstrak ubi jalar dan ekstrak ubi kayu dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter diukur dalam bobot kering biomassa sel per satuan volume. Hasil produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dapat dilihat pada Tabel 1.

Produksi biomassa sel khamir R1 dalam substrat ekstrak ubi jalar sebesar 0,68 g/L, dicapai pada inkubasi hari ke-2. Pada inkubasi hari ke-6, isolat khamir R2 baru

menghasilkan biomassa tertinggi, yaitu sebesar 0,83 g/L. Produksi biomassa sel khamir pada substrat ekstrak ubi kayu sebesar 0,63 g/L untuk R1 dan 0,88 g/L untuk R2 yang dicapai setelah inkubasi selama 9 hari. Produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 pada tiap hari inkubasi dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Dari gambar tersebut terlihat bahwa kisaran produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dalam ekstrak ubi jalar berturut-turut 0,24-0,65 g/L dan 0,17-0,83 g/L. Rata-rata produksi biomassa tiap hari mencapai 0,56 g/L untuk khamir R1 dan 0,57 g/L untuk khamir R2.

Pada produksi menggunakan substrat ekstrak ubi kayu, kisaran produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 berturut-turut 0,16-0,63 g/L dan 0,18-0,88 g/L. Rata-rata produksi biomassa tiap hari mencapai 0,46 g/L untuk khamir R1 dan 0,58 g/L untuk khamir R2. Produksi biomassa khamir R1 lebih kecil daripada R2, baik pada substrat ekstrak ubi jalar maupun ekstrak ubi kayu.

Berdasarkan hasil uji T, rata-rata produksi biomassa sel antara khamir R1 dan R2 tidak berbeda nyata, baik pada substrat ekstrak ubi jalar maupun ubi kayu. Namun demikian, khamir R1 dan R2 menghasilkan biomassa yang lebih tinggi dalam substrat ekstrak ubi jalar dalam waktu yang lebih singkat daripada dalam substrat ekstrak ubi kayu.

Pengukuran biomassa, selain untuk mengetahui produksi biomassa sel khamir R1 dan R2, juga dapat digunakan untuk mengetahui pertumbuhan khamir. Susanto et al. (1992) mengatakan bahwa pertumbuhan dapat dinyatakan sebagai peningkatan massa sel. Pencapaian biomassa tertinggi yang lebih cepat dari khamir R1 dibandingkan R2 pada substrat ekstrak ubi jalar menunjukkan khamir R1 lebih cepat memanfaatkan substrat untuk pertumbuhannya.

Parameter yang paling mudah untuk mengetahui aktivitas pertumbuhan mikroorganisme adalah perubahan pH (Sugoro dan Pikoli 2004). Pada awal inkubasi, pH isolat khamir R1 dan R2 mengalami penurunan dengan sangat cepat dibandingkan waktu-waktu berikutnya. Penurunan pH disebabkan oleh adanya produksi asam-asam seperti asam laktat dan asam piruvat hasil fermentasi gula oleh khamir dalam kondisi aerob. Kenaikan pH substrat terjadi karena adanya pemanfaatan protein oleh khamir sebagai bahan nutrisi dengan hasil samping berupa amonia (Walker 1997). Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa kisaran pH khamir R1, baik pada substrat ekstrak ubi jalar maupun ekstrak ubi kayu, lebih rendah (4,05-4,65 dan 3,65-4,36) daripada khamir R2 (4,29-4,90 dan 4,13-4,95). Hal ini menunjukkan bahwa khamir R1 lebih banyak menghasilkan asam hasil metabolisme glukosa dalam substrat.

Kisaran pH dalam proses produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 setelah hari ke-1 adalah 4,90-4,05 dalam substrat ekstrak ubi jalar dan 4,95-3,65 dalam substrat ekstrak ubi kayu. Nilai pH optimum untuk pertumbuhan khamir berkisar antara 4,0-6,5. Dengan demikian, proses produksi biomassa tersebut berlangsung dalam kisaran pH optimum untuk pertumbuhan khamir. Pada pH optimumnya, khamir dapat tumbuh secara optimum.

Nilai pH lingkungan mempengaruhi kinerja dinding sel dalam mentranspor bahan-bahan dalam substrat untuk dimanfaatkan di dalam sel khamir. Nilai pH kultur bahan probiotik ini sangat penting untuk diamati karena berperan dalam proses metabolisme selanjutnya di dalam rumen. Salah satu pengaruh probiotik khamir dalam rumen adalah menstabilkan pH rumen (Sugoro et al. 2005).

Laju produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 serta laju konsumsi glukosa

Laju produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 merupakan peningkatan produk berupa biomassa seiring dengan meningkatnya waktu. Laju konsumsi glukosa merupakan perubahan konsentrasi glukosa substrat seiring dengan meningkatnya waktu. Laju rata-rata produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 serta laju konsumsi glukosa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa laju rata-rata produksi biomassa dan konsumsi glukosa substrat ekstrak ubi jalar berturut-turut sebesar 0,04 g/L/hari dan 0,86 g/L/hari untuk khamir R1, serta 0,06 g/L/hari dan 0,51 g/L/hari untuk khamir R2. Laju rata-rata produksi biomassa sel khamir R1 lebih rendah daripada R2, namun laju konsumsi glukosa lebih tinggi. Hal ini menunjukkan ketidakefisienan penggunaan glukosa dalam substrat ekstrak ubi jalar untuk produksi biomassa terutama oleh khamir R1. Susanto et al. (1992) menyatakan bahwa selain untuk pertumbuhan sel, substrat juga digunakan untuk pemeliharaan sel dan pembentukan produk metabolit.

Pada produksi menggunakan substrat ekstrak ubi kayu, laju rata-rata produksi biomassa dan konsumsi glukosa berturut-turut sebesar 0,05 g/L/hari dan 0,19 g/L/hari untuk khamir R1, serta 0,08 g/L/hari dan 0,28 g/L/hari untuk khamir R2. Rendahnya laju rata-rata produksi biomassa R1 dibandingkan R2 seiring dengan rendahnya laju konsumsi glukosa.

Berdasarkan hasil uji T untuk dua sampel bebas, laju rata-rata produksi biomassa dan konsumsi glukosa antara khamir R1 dan R2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada penelitian ini, perubahan konsentrasi glukosa dalam substrat tidak stabil. Gambar 3 menunjukkan produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dengan ketidakstabilan konsentrasi glukosa. Hal ini terjadi karena substrat yang digunakan memiliki kandungan gula yang beragam, namun pada penelitian ini, analisis gula hanya dilakukan pada gula pereduksi yaitu glukosa. Duke (1983) mengatakan bahwa umbi ubi jalar mengandung sukrosa dan gula-gula pereduksi. Khamir mampu memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Bekatorou et al. 2006). Oleh karena itu, konsentrasi glukosa pada titik tertentu tinggi karena terjadi penambahan hasil pemecahan sukrosa oleh khamir.

Perolehan *Yield x/s* sel khamir R1 dan R2

Perolehan *yield* sel khamir R1 dan R2 dinyatakan sebagai biomassa yang terbentuk per satuan substrat yang dikonsumsi. Perolehan *yield x/s* sel khamir R1 dalam produksi biomassa menggunakan substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Produksi biomassa sel khamir R1 dan R2.

Substrat	Isolat khamir	Biomassa tertinggi		Biomassa rata-rata (g/L)
		Biomassa (g/L)	Waktu (hari)	
Ekstrak ubi jalar	R1	0,68	2	0,56±0,13
	R2	0,83	6	0,57±0,21
Ekstrak ubi kayu	R1	0,63	9	0,48±0,13
	R2	0,88	9	0,58±0,21

Tabel 2. Laju produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 serta laju konsumsi glukosa dalam substrat ekstrak ubi jalar dan ekstrak ubi kayu.

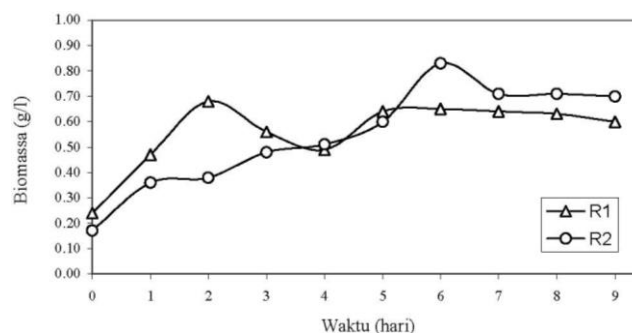
Substrat	Isolat khamir	Laju rata-rata produksi biomassa (g/L/hari)	Laju rata-rata konsumsi glukosa (g/L/hari)
	R2	0,06 ± 0,09	0,51 ± 1,77
Ekstrak ubi kayu	R1	0,05 ± 0,09	0,19 ± 0,66
	R2	0,08 ± 0,08	0,28 ± 0,93

Tabel 3. Perolehan *yield* x/s sel khamir R1 dan R2 *yield* x/s tertinggi

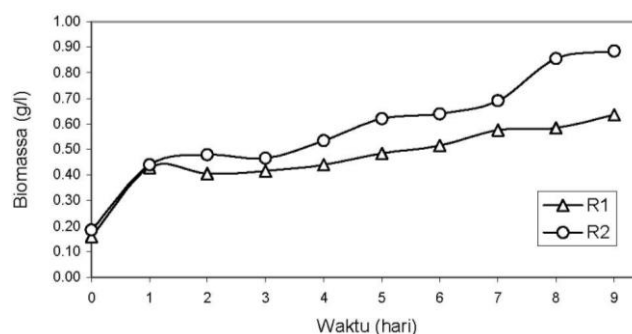
Substrat	Isolat khamir	Yield x/s (g/L)	Waktu (hari)
Ekstrak ubi jalar	R1	0,43	3
	R2	0,61	3
Ekstrak ubi kayu	R1	0,29	7
	R2	0,31	7

Tabel 4. Efisiensi produksi biomassa sel khamir R1 dan R2

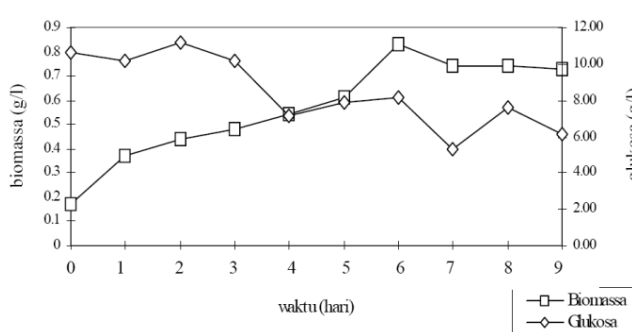
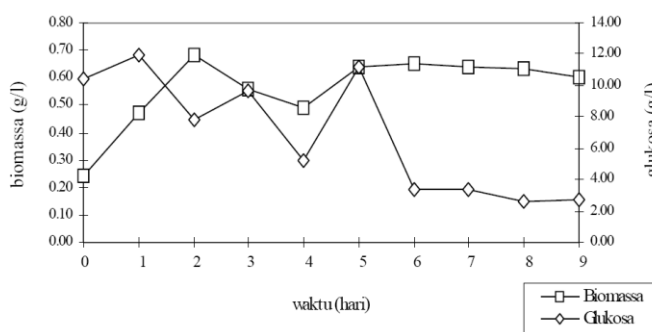
Substrat	Isolat khamir	Efisiensi (%)
Ekstrak ubi jalar	R1	86,23
	R2	122,34
Ekstrak ubi kayu	R1	57,46
	R2	61,18



Gambar 1. Produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dalam substrat ekstrak ubi jalar dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter



Gambar 2. Produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dalam substrat ekstrak ubi kayu dalam fermentor tipe *air-lift* skala 18 liter



Gambar 3. Bobot biomassa dan konsentrasi glukosa substrat. A) Khamir R1, B) khamir R2 pada substrat ekstrak ubi jalar

Perolehan *yield x/s* merupakan koefisien perolehan biomassa yang menggambarkan perbandingan antara jumlah biomassa yang terbentuk dengan jumlah substrat yang dikonsumsi (Susanto et al. 1992). Perolehan *yield x/s* tertinggi untuk isolat khamir R1 dan R2 dalam substrat ekstrak ubi jalar berturut-turut sebesar 0,43 g/g dan 0,61 g/g. Hasil ini dicapai setelah 3 hari inkubasi. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan *yield x/s* isolat khamir R1 dan R2 menggunakan substrat ubi kayu yaitu 0,29 g/g untuk isolat khamir R1 dan 0,31 g/g untuk khamir R2. Hasil tersebut dicapai pada inkubasi hari ke-7. Khamir R1 dan R2 dalam substrat ekstrak ubi jalar menghasilkan *yield x/s* lebih tinggi dan lebih cepat daripada dalam substrat ekstrak ubi kayu karena kandungan glukosa pada substrat ekstrak ubi jalar lebih tinggi (11,17 g/L) dibandingkan substrat ekstrak ubi kayu (3,94 g/L). Khamir menggunakan gula sederhana terlebih dahulu untuk pertumbuhannya.

Berdasarkan hasil uji T, rata-rata *yield x/s* khamir R1 dan R2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini berarti tidak terdapat perbedaan hasil yang diperoleh antara khamir R1 dan R2 dalam produksi biomassa menggunakan substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu.

Secara umum, perolehan *yield x/s* khamir R1 dan R2 lebih rendah dibandingkan hasil penelitian Van Hoek et al. (1998) dan Rajoka et al. (2006). Van Hoek et al. (1998) dalam penelitiannya menggunakan substrat glukosa menghasilkan *yield* sebesar 0,49 g/g. Sementara itu, Rajoka et al. (2006) dengan menumbuhkan *Candida utilis* menghasilkan *yield* sebesar 0,65 g/g.

Secara teori, perolehan *yield x/s* *Saccharomyces cerevisiae* dalam substrat glukosa adalah sebesar 0,5 g/g (Susanto et al. 1992). Jika perolehan *yield x/s* tersebut 0,5 g/g maka terdapat sejumlah substrat yang tidak terukur. Jika perolehan *yield x/s* di bawah 0,5 g/g maka penggunaan substrat untuk membentuk biomassa lebih sedikit dibandingkan penggunaan untuk kebutuhan sel yang lain seperti pemeliharaan sel dan pembentukan produk metabolit.

Efisiensi produksi biomassa sel khamir R1 dan R2

Efisiensi produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 merupakan perbandingan nilai *yield x/s* dari hasil percobaan dengan nilai konversi secara teoritisnya, yaitu produksi biomassa *Saccharomyces cerevisiae* dalam substrat glukosa 0,5 g/g. Efisiensi produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 dapat dilihat pada Tabel 4, berturut-turut 86,23% dan 122,34%. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan produksi biomassa menggunakan substrat ekstrak ubi kayu. Efisiensi produksi untuk isolat khamir R1 adalah 57,46% dan 61,18% untuk isolat khamir R2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa produksi biomassa sel khamir R2 dengan menggunakan substrat ekstrak ubi jalar merupakan proses produksi yang paling efisien (122,34%). Nilai tersebut merupakan nilai konversi *yield x/s* hasil penelitian ini berdasarkan nilai secara teoritis dengan menggunakan substrat glukosa murni. Sementara itu pada penelitian ini, substrat yang digunakan memiliki komposisi yang kompleks.

Nilai efisiensi yang lebih besar dari 100% menunjukkan adanya penambahan kandungan glukosa yang digunakan

oleh khamir selama proses produksi biomassa. Penambahan kandungan glukosa dalam substrat terjadi karena kandungan substrat yang kompleks. Adanya penurunan pH yang menjadikan kondisi substrat menjadi asam menyebabkan terjadinya pemecahan pati di dalam substrat. Pemecahan pati dalam kondisi asam menghasilkan gula sederhana yang dapat digunakan oleh khamir.

Berdasarkan hasil uji T, tidak terdapat perbedaan efisiensi produksi antara khamir R1 dan R2. Hal ini berarti efisiensi produksi biomassa sel khamir R1 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu dalam fermentor *air-lift* sama dengan efisiensi produksi biomassa sel khamir R2.

Efisiensi proses dapat digunakan untuk menilai kinerja fermentor yang digunakan (Susanto et al. 1992). Fermentor yang digunakan dalam proses produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 pada penelitian ini adalah fermentor tipe *air-lift*. Fermentor tipe *air-lift* sesuai untuk memproduksi biomassa mikroorganisme uniseluler (Nedovic et al. 1999) dan dapat menekan biaya produksi karena ketidakhadiran sistem agitasi secara mekanik.

Fermentor tipe *air-lift* dititikberatkan pada sistem pengadukan dan aerasi tanpa menggunakan pengaduk mekanik. Pengadukan pada fermentor tersebut menggunakan aliran udara melalui pipa yang dimasukkan ke dalam fermentor. Pengadukan terjadi karena adanya sirkulasi udara di dalam fermentor (McNeil dan Harvey 1990).

Berdasarkan hasil percobaan, aerator yang digunakan pada produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 memiliki kecepatan 0,5 liter per menit. Aerator tersebut mampu mengaduk fermentor dengan kecepatan aerasi 0,03 $\text{vv}^{-1}\text{m}^{-1}$. Penelitian yang dilakukan oleh Oterstedt et al. (2004) menggunakan aliran udara rata-rata 0,75 liter per menit. Kecepatan aerasi pada penelitian ini sangat kecil dibandingkan penelitian Assa dan Bar (2004) yang menggunakan aerasi 0,1-1,45 $\text{vv}^{-1}\text{m}^{-1}$ dalam memproduksi biomassa khamir menggunakan fermentor *air-lift*. Aerasi yang sangat kecil mengakibatkan suplai oksigen bagi aktivitas metabolik khamir sangat sedikit. Hal ini dapat mempengaruhi pertumbuhan isolat khamir dalam fermentor.

Nilai efisiensi proses dapat digunakan sebagai bahan kajian ekonomi yang menyatakan hubungan antara jumlah bahan baku dan harganya dengan jumlah produk yang diperoleh (Susanto et al. 1992). Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi biomassa khamir R1 dan R2 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar memiliki efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ubi kayu. Secara ekonomi, ubi kayu lebih murah daripada ubi jalar, namun ubi kayu lebih susah dalam penanganannya karena memiliki kandungan pati yang tinggi, sehingga proses produksi biomassa khamir menggunakan ubi kayu lebih lama dibandingkan dengan ubi jalar. Oleh karena itu, berdasarkan hasil penelitian ini, produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar lebih efisien dibandingkan dengan menggunakan ubi kayu.

Pada substrat ekstrak ubi jalar, efisiensi produksi biomassa khamir R2 lebih tinggi dibandingkan R1. Dengan demikian, pada penelitian ini, produksi biomassa yang

paling efisien adalah produksi biomassa khamir R2 menggunakan substrat ekstrak ubi jalar. Kesimpulan ini juga didukung oleh hasil penelitian Sugoro et al. (2005) yang menyimpulkan bahwa khamir yang memiliki potensi paling baik sebagai bahan probiotik adalah khamir R2.

Produksi biomassa khamir R1 dan R2 dalam skala besar menggunakan fermentor tipe *air-lift* bertujuan untuk memperoleh bahan pembuatan probiotik untuk ternak ruminansia. Probiotik khamir R1 dan R2 dibuat dengan cara mencampur keseluruhan kultur dengan dedak. Tidak dilakukan pemanenan atau pemurnian biomassa sel khamir dalam pembuatan bahan probiotik tersebut, oleh karenanya proses produksi biomassa khamir R1 dan R2 dilakukan dalam sistem kultur *batch*. Dedak dan kandungan substrat yang tersisa tersebut dapat digunakan oleh khamir untuk tetap bertahan hidup sebagai probiotik untuk ternak ruminansia.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 pada substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu berturut-turut 0,65 g/L; 0,83g/L; 0,63 g/L; dan 0,88 g/L. Produksi biomassa antara khamir R1 dan R2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, baik pada ekstrak ubi jalar maupun ubi kayu. Laju produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 serta konsumsi glukosa pada substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu berturut-turut sebesar 0,04 g/L/hari dan 0,86 g/L/hari; 0,06 g/L/hari, dan 0,51 g/L/hari; 0,05 g/L/hari dan 0,19 g/L/hari; 0,08 g/L/hari dan 0,28 g/L/hari. Laju produksi biomassa dan konsumsi glukosa antara khamir R1 dan R2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, baik pada substrat ekstrak ubi jalar maupun ubi kayu. Perolehan *yield* x/s khamir R1 dan R2 pada substrat ekstrak ubi jalar dan ubi kayu berturut-turut sebesar 0,43 g/g; 0,61 g/g; 0,29 g/g; dan 0,31 g/g. Perolehan “*yield*” x/s antara khamir R1 dan R2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, baik pada substrat ekstrak ubi jalar maupun ubi kayu. Efisiensi produksi biomassa sel khamir R1 dan R2 pada substrat substrat ubi jalar dan ubi kayu berturut-turut sebesar 86,23%; 122,34%; 57,46%; dan 61,18%. Efisiensi produksi biomassa antara khamir R1 dan R2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, baik pada substrat ekstrak ubi jalar maupun ubi kayu.

DAFTAR PUSTAKA

- Assa A, Bar R. 2004. Biomass axial distribution in air-lift bioreactor with yeast and plant cell. *Biotechnol Bioeng* 38 (11): 1325-1330.
- Bekatorou A, Psarianos C, Koutinas AA. 2006. Production of food grade yeasts. *Food Technol Biotechnol* 44 (3): 407-415.
- Bridson EY. 1998. *The oxford manual*. 8th edition. Oxford Limited, London.
- Deacon J. 1997. *The microbial word: Yeast and like yeast fungi*. Institute of Cell and Molecular Biology, The University of Edinburgh, Edinburgh.
- Duke JA. 1983. *Handbook of energy crops: Ipomoea batatas (L.) Lam*. www.hort.purdue.edu. [21 Mei 2006].
- Fuller J. 1992. *Probiotics, The scientific basics*. Chapman dan Hill, London.
- Havenaar R, Jos HJ. 1992. *Probiotic: A general view*. In: Wood BJB (ed). *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Chapman and Hill, London.
- McNeil B, Harvey LM. 1990. *Fermentation: A practical approach*. IRL Press, New York.
- Nedovic VA, Cukalovic IL, Vunjak-Novakovic. 1999. *Immobilized Cell Technology (ICT) in beer fermentation-A possibility for environmentally sustainable and cost-effective process*. www.icub.bg.ac.yu. [12 Mei 2006].
- Otterstedt K, Larson C, Bill RM et al. 2004. Switching the mode of metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO Reports* 5 (5): 532-537..
- Pelczar MJr, Chan ECS. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. UI Press, Jakarta.
- Rajoka MI, Khan SH, Jabbar MA et al. 2006. Kinetics of batch single cell protein production from rice polishings with *Candida utilis* in continuously aerated tank reactors. *Bioresour Technol* 97 (15): 1934-1941.
- Rubatzky EV, Mas Y. 1998. *Sayuran dunia I. Edisi kedua*. ITB Press, Bandung.
- Saragih B. 2000. *Tropical animal production. Prosiding Pertemuan Ilmiah Internasional Tropical Animal Production Ketiga*. UGM Press, Yogyakarta.
- Spencer JFT, Spencer DM. 1997. *Yeast: In natural and artificial habitat*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- Sugoro I, Gobel I, Lelaningtayans N. 2005. Probiotik khamir terhadap fermentasi dalam cairan rumen secara in vitro. *Prosiding Apisora P3TIR-BATAN*. P3TIR-BATAN, Jakarta.
- Sugoro I, Mellawati J. 2004. Pengaruh penambahan molases pada media ubi jalar terhadap pertumbuhan isolat khamir R1 dan R110 untuk bahan probiotik ternak ruminansia. *Jurnal Saintika* 35-60.
- Sugoro I, Pikoli M. 2004. Isolasi dan seleksi khamir mutan dari cairan rumen kerbau sebagai bahan probiotik. *Laporan Penelitian. P3TIR-BATAN*, Jakarta.
- Susanto H, Adhi TP, Suryo W. 1992. *Buku dan monograf rekayasa bioproses*. PAU Bioteknologi ITB, Bandung.
- Van Hoek P, Van Dijken JP, Pronk JT. 1998. Effect of specific growth rate on fermentative capacity of Baker's yeast. *Appl Environ Microbiol* 64 (11): 4226-4233.
- Walker GM. 1997. *Yeast physiology and biotechnology*. John Willey and Sons, Chister.