

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan menumbuhkan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y – 18 dengan sistem 'batch' menggunakan medium standar dengan sumber nitrogen ekstrak yeast sebagai kontrol (P_0) dan medium standar dengan substitusi sumber nitrogen dari ekstrak tauge 5% (P_1), 10% (P_2) dan 15% (P_3) sebagai perlakuan.

Pertumbuhan *R. mucilaginosa* UICC Y – 18 selama 120 jam inkubasi ditunjukkan dengan adanya pertambahan berat kering sel setiap interval 12 jam (Gambar 01.), yang terlihat juga secara visual dengan terjadinya perubahan kekeruhan pada medium cair, dari jernih menjadi keruh kemerahan.

Hasil analisis sidik ragam yang dilakukan terhadap biomassa yang dihasilkan selama masa inkubasi 0 – 36 jam ternyata berbeda tidak nyata untuk setiap perlakuan medium. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampai dengan masa inkubasi 36 jam, ekstrak tauge yang diberikan tidak memberikan pengaruh yang nyata pada penambahan biomassa sel khamir, hal ini disebabkan karena komposisi nutrien dalam medium dengan substitusi ekstrak tauge tidak berbeda jauh dari medium yang mengandung ekstrak yeast.

Dari hasil uji Duncan terhadap biomassa sel khamir pada inkubasi 48 jam hanya P_0 (6.58 g/l) yang menunjukkan hasil tertinggi dan berbeda sangat nyata dengan tiga perlakuan yang lain (Gambar 01.), hal tersebut menunjukkan bahwa medium P_0 yang menggunakan ekstrak yeast mempunyai kandungan nutrien yang lebih baik, sehingga pertumbuhan biomassa selnya lebih cepat dibandingkan

medium dengan substitusi ekstrak taube. Ekstrak yeast mempunyai kandungan mikromineral dan vitamin yang lebih lengkap dibandingkan dalam ekstrak taube, yang berperan dalam membantu metabolisme sel sebagai koenzim dan kofaktor.

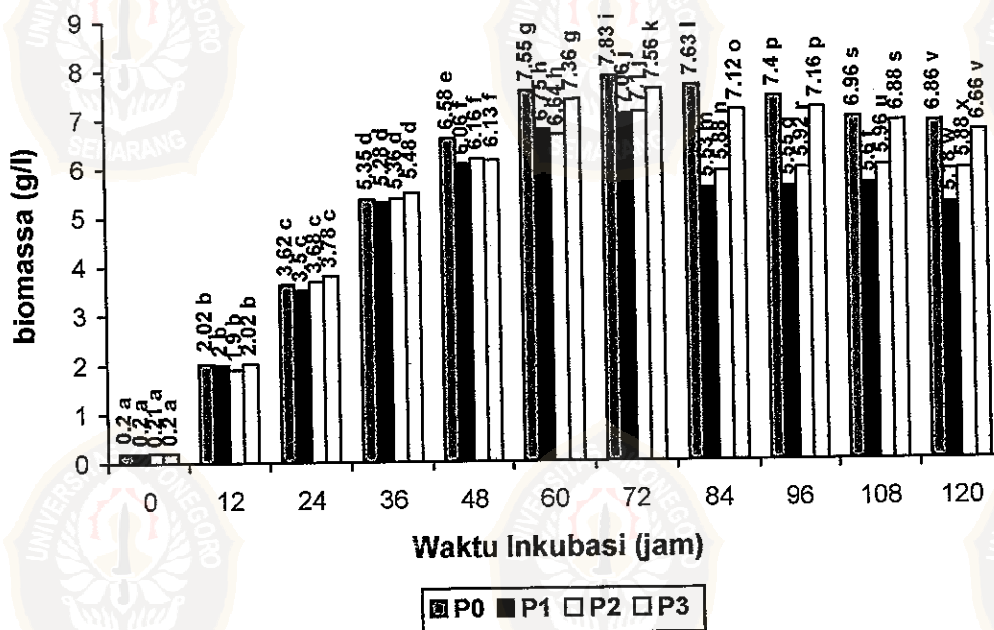
Pada inkubasi 60 jam biomassa tertinggi dicapai oleh P_0 (7.55 g/l) dan P_3 (7.36 g/l) yang berbeda tidak nyata, sedangkan perlakuan P_1 dan P_2 masing-masing menghasilkan biomassa 6.75 g/l dan 6.64 g/l, juga berbeda tidak nyata. P_0 dan P_3 sendiri berbeda sangat nyata dengan P_1 dan P_2 (Gambar 01.). Hal ini menunjukkan hanya P_3 yang mampu memberikan pengaruh yang nyata pada penambahan biomassa sel khamir dibandingkan P_1 dan P_2 . Hal tersebut dapat disebabkan karena nutrisi yang tersedia dalam medium P_3 yang mengandung 15% ekstrak taube mempunyai komposisi nutrisi yang mendekati dengan medium yang mengandung ekstrak yeast. Pertumbuhan yang sama juga diperlihatkan antara P_1 dan P_2 yang mengandung ekstrak taube 5% dan 10%. Hal ini ditunjukkan dengan pertumbuhan biomassa sel yang berbeda tidak nyata antar keduanya. Protein ekstrak taube akan dipecah menjadi asam-asam amino penyusunnya dengan bantuan enzim protease khamir. Selanjutnya asam-asam amino tersebut akan masuk ke dalam siklus asam karboksilat. Lipid dan karbohidrat akan dikatabolisme lebih dahulu menjadi senyawa asetil KoA sebelum akhirnya juga masuk ke dalam siklus asam karboksilat. Dalam siklus ini, asam amino dari protein dan asetil KoA dari karbohidrat dan lipid akan dimetabolisme untuk menghasilkan karbon dioksida dan air sebagai substrat biosintesis unit makromolekul pembangun sel seperti lipid, polisakarida, protein dan asam nukleat. Biosintesis lipid berfungsi sebagai komponen membran sitoplasma dan organel serta komponen dalam dinding sel bersama dengan polisakarida yang

terdapat dalam bentuk polimer glukosa, sedangkan protein bertanggung jawab dalam regulasi dan katalis dalam semua proses kimia yang terjadi di dalam sel. Menurut Schlegel dan Schmidt (1984) metabolisme di dalam sel diawali dengan katabolisme molekul nutrien menjadi prekursor unit pembangun seperti asam amino, asam lemak, monosakarida dan nukleotida.

Pada inkubasi 72 jam biomassa tertinggi dicapai oleh P_0 (7.83 g/l) yang berbeda nyata dengan tiga perlakuan yang lain, sedangkan P_3 (7.56 g/l) berbeda nyata dengan P_1 (7.06 g/l) dan P_2 (7.10 g/l), yang keduanya berbeda tidak nyata. Hal tersebut menunjukkan bahwa nutrien dalam medium P_3 tersedia lebih banyak dibandingkan dalam P_1 atau P_2 , yang akan digunakan sebagai substrat metabolisme bagi pertumbuhan sel sehingga diperoleh biomassa yang lebih tinggi. Substrat dari hasil katabolisme akan digunakan oleh sel untuk sintesis komponen asam nukleat (DNA/RNA) sebagai pembawa informasi genetik yang bertanggung jawab pada proses replikasi sel yang dapat meningkatkan biomassa.

Sampai masa inkubasi 72 jam biomassa sel khamir yang dihasilkan pada setiap interval 12 jam dalam medium P_1 dan P_2 selalu berbeda tidak nyata dari awal inkubasi, hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan nutrien yang tersedia dalam medium P_1 dan P_2 yang mengandung ekstrak tauge 5% dan 10% tidak jauh berbeda untuk digunakan dalam proses metabolisme yang menghasilkan substrat bahan pembangun untuk biosintesis makromolekul dan komponen protoplasma sel. Setelah masa inkubasi 72 jam hasil biomassa sel setiap interval 12 jam pada medium P_1 dan P_2 berbeda sangat nyata, hal tersebut terjadi karena perbedaan komposisi nutrien yang terkandung dalam masing-masing medium, baik protein, karbohidrat, lipid, mikromineral seperti kalsium dan besi serta kandungan

vitamin. Kalsium dalam proses metabolisme sel diperlukan untuk membantu pengangkutan bahan melalui membran, sedangkan besi akan membentuk kompleks dengan porfirin sebagai heme yang merupakan gugus prostetik dan berperan dalam sitokrom pada reaksi transport elektron. Vitamin dalam proses metabolisme sel berfungsi sebagai kofaktor organik yang diperlukan bagi aktifitas enzim seperti yang mengkatalis reaksi pembentukan asetil KoA dari piruvat pada glikolisis.



Gambar 01. Diagram batang biomassa *R. mucilaginosa* UICC Y – 18 pada medium yang berbeda setiap interval 12 jam selama 120 jam inkubasi.

Keterangan : Angka-angka pada diagram batang yang terdapat dalam waktu inkubasi sama yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata.

P₀ = Medium standar dengan ekstrak yeast

P₁ = Medium standar dengan substitusi ekstrak tauge 5 %

P₂ = Medium standar dengan substitusi ekstrak tauge 10 %

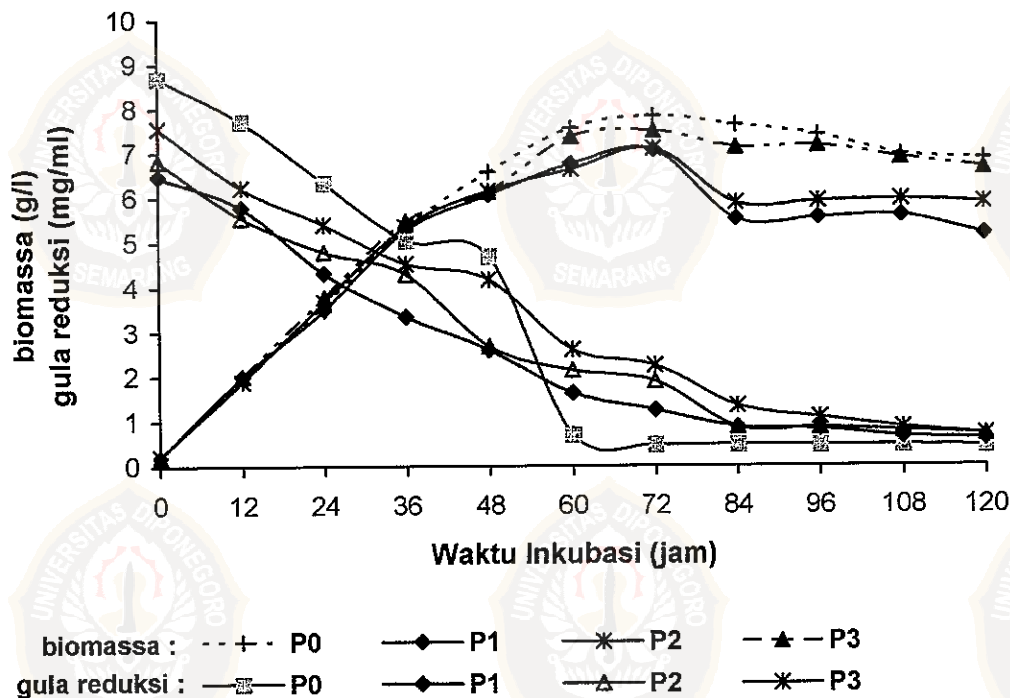
P₃ = Medium standar dengan substitusi ekstrak tauge 15 %

Pada inkubasi 84 jam semua perlakuan menunjukkan perbedaan sangat nyata, biomassa tertinggi dicapai oleh berturut-turut P₀, P₃, P₂ dan P₁. Perbedaan tersebut menunjukkan adanya perbedaan komposisi nutrisi dalam medium pada masing-masing perlakuan, yang akan berpengaruh dalam proses metabolisme.

Pada inkubasi 96 jam sampai akhir inkubasi P₀ dan P₃ menghasilkan biomassa tertinggi yang berbeda tidak nyata, hal tersebut menunjukkan bahwa komposisi nutrisi yang terkandung dalam P₀ hampir sama dengan P₃, sedangkan P₁ berbeda sangat nyata dengan P₂. Hal ini dimungkinkan karena kandungan nutrisi dalam kedua medium mempunyai komposisi yang berbeda.

Pertambahan biomassa dengan menghitung berat kering sel selama waktu inkubasi yang dijadikan sebagai ukuran pertumbuhan dapat digambarkan sebagai kurva sigmoid. Kurva ini menunjukkan adanya perubahan pertumbuhan kultur khamir selama fase-fase yang berbeda yaitu : fase lag (adaptasi), fase logaritmik (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian.

Berdasarkan kurva pertumbuhan biomassa sel *R. mucilaginosa* UICC Y – 18 (Gambar 02.) diketahui bahwa mulai awal inkubasi, sel khamir pada masing-masing medium perlakuan langsung mampu tumbuh memasuki fase logaritmik tanpa melalui fase lag (adaptasi). Hal tersebut disebabkan karena penggunaan inokulum yang ditumbuhkan pada medium yang sama, sehingga tidak diperlukan masa adaptasi dengan medium yang digunakan. Menurut Kockova dan Kratochvilova (1990) adaptasi merupakan fase bagi sel untuk menyesuaikan dengan substrat dan kondisi lingkungan sekitar yang lamanya dipengaruhi oleh umur dan jumlah inokulum.



Gambar 02. Kurva pertumbuhan dan sisa konsumsi gula reduksi *R. mucilaginosa* UICC Y – 18 pada medium yang berbeda setiap interval 12 jam selama 120 jam inkubasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fase logaritmik pada medium P_0 dan P_3 terjadi sampai masa inkubasi 60 jam, lebih cepat dibandingkan pada medium P_1 dan P_2 yang terjadi sampai masa inkubasi 72 jam, yang diindikasikan dengan terjadinya biomassa tertinggi pada masing-masing perlakuan. Fase ini ditandai dengan kecepatan pembelahan yang mencapai maksimum dan waktu generasinya paling pendek, sehingga jumlah khamir untuk tiap interval 12 jam menjadi lebih besar. Perbedaan kecepatan fase logaritmik dalam pertumbuhan khamir dipengaruhi oleh komposisi nutrisi di dalam medium. Tersedianya nutrisi yang cukup dan faktor lingkungan yang sesuai turut mendukung pertumbuhan khamir, sehingga massa sel akan meningkat seiring dengan kecepatan pertumbuhan.

Selama pembiakan khamir suhu medium diperlakukan pada suhu 30°C. Menurut Fardiaz (1992) suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah antara 28 – 32°C, dengan suhu maksimum 35 – 47°C. Setiap mikrobia memiliki suhu optimum untuk pertumbuhannya. Pada suhu diluar suhu optimumnya, maka akan terjadi penurunan kecepatan pertumbuhan. Apabila suhu melewati batas minimal atau maksimal yang tidak dapat ditoleransi maka pertumbuhan mikrobia akan terhenti. Suhu sangat mempengaruhi aktivitas enzim mikrobia, sehingga suhu yang terlalu ekstrim akan menghentikan aktivitas mikrobia.

pH awal medium dalam penelitian ini adalah 4 dan turun menjadi 3 pada akhir masa inkubasi. Pelepasan karbon dioksida dan air serta asam-asam organik dari siklus asam sitrat dalam proses metabolisme oleh sel khamir merupakan salah satu faktor penyebab penurunan pH. pH yang terlalu rendah dapat menghambat pertumbuhan khamir, walaupun menurut Kockova dan Kratochvilova (1990) pada pH rendah terdapat keuntungan yaitu menekan pertumbuhan banyak bakteri kontaminan.

Biomassa tertinggi pada keempat perlakuan diperoleh pada masa inkubasi yang berbeda (Gambar 02.). Pada medium P₃ biomassa tertinggi 7.36 g/l diperoleh pada inkubasi 60 jam sama dengan medium P₀ dengan biomassa 7.55 g/l, sedangkan pada medium P₁ dan P₂ biomassa tertinggi diperoleh pada inkubasi 72 jam yaitu 7.06 g/l dan 7.10 g/l. Hal tersebut menunjukkan bahwa komposisi nutrisi yang tersedia dalam medium P₃ yang mengandung 15% ekstrak tauge mendekati dengan komposisi medium yang mengandung ekstrak yeast, begitu juga antara P₁ dan P₂ yang mengandung ekstrak tauge 5% dan 10%.

Pada medium P_0 dan P_3 pertumbuhan setelah masa inkubasi 60 jam telah memasuki fase stasioner, hal tersebut terlihat dengan penambahan biomassa sampai pada masa inkubasi 96 jam yang berbeda tidak nyata (Lampiran 05.), sehingga jumlah sel menjadi tetap. Fase stasioner terjadi karena kandungan nutrisi dalam medium telah jauh berkurang. Selanjutnya sel memasuki fase kematian yang ditandai dengan menurunnya jumlah biomassa secara perlahan sampai masa akhir inkubasi.

Pada medium P_1 dan P_2 fase stasioner tidak terlihat karena kemungkinan kandungan nutrisi dalam medium telah banyak berkurang. Setelah mencapai puncak pada masa inkubasi 72 jam, pertumbuhan sel langsung menurun menuju fase kematian. Hal tersebut terjadi kemungkinan karena nutrisi dalam medium sudah tidak mampu mendukung pertumbuhan, sehingga sel hanya menggunakan nutrisi yang masih tersisa. Pada masa inkubasi 120 jam terjadi penurunan tajam pada jumlah biomassa sel khamir dalam medium P_1 . Hal tersebut terjadi kemungkinan karena nutrisi dalam medium sudah habis dan sel telah banyak yang mati. Menurut Jewetz (1996) terjadinya penumpukan sisa hasil metabolisme dapat menghambat pertumbuhan atau meracuni khamir yang dapat membunuh khamir, sehingga jumlah biomassa sel menjadi turun.

Terjadinya pertumbuhan selama masa inkubasi 120 jam diikuti oleh penurunan kadar gula reduksi dalam medium. Pengamatan yang dilakukan selama masa inkubasi menunjukkan bahwa kandungan glukosa dalam medium semakin menurun seiring dengan pertumbuhan khamir. Hal tersebut menunjukkan bahwa khamir membutuhkan sumber karbon sebagai sumber energi selain sumber nitrogen untuk pertumbuhannya. Menurut Kockova dan Kratochvilova (1990) dan

Walker (1999) khamir adalah organisme kemoorganotrof atau kemoheterotrof yang menggunakan senyawa organik sebagai donor sekaligus aseptor elektron dan mengoksidasinya untuk memperoleh energi. Gambar 02. menunjukkan adanya perbedaan konsumsi gula reduksi oleh *R. mucilaginosa* UICC Y – 18 pada medium yang berbeda yaitu 5.8704 mg/ml (P₁), 6.1248 mg/ml (P₂), 6.8640 mg/ml (P₃) dan 8.2472 mg/ml (P₀). Hal tersebut karena metabolisme gula yang terjadi di dalam sel sangat dipengaruhi oleh konsentrasi enzim yang berperan dalam reaksi glikolisis yang aktifitasnya sangat dipengaruhi oleh adanya koenzim seperti ion Mg²⁺, sehingga dalam medium dengan konsentrasi mikromineral Mg lebih banyak maka reaksi glikolisis juga meningkat. Menurut Albert (1994) kecepatan lintas metabolisme sel yang mengarah pada reaksi katabolisme dan anabolisme berada dibawah sistem pengawasan dan pengaturan yang melibatkan aktifitas terkendali dari ratusan enzim.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan sel khamir dalam medium P₃ mampu menghasilkan kurva pertumbuhan yang hampir sama dengan medium P₀. Hal tersebut menunjukkan bahwa komposisi nutrisi dalam medium yang mengandung ekstrak tauge 15% (^b/_v), hampir sama dengan medium yang mengandung ekstrak yeast, sehingga dapat digunakan sebagai sumber nitrogen pengganti untuk menghasilkan biomassa dan pigmen yang optimum dalam pertumbuhan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y – 18.