

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum tentang Khamir

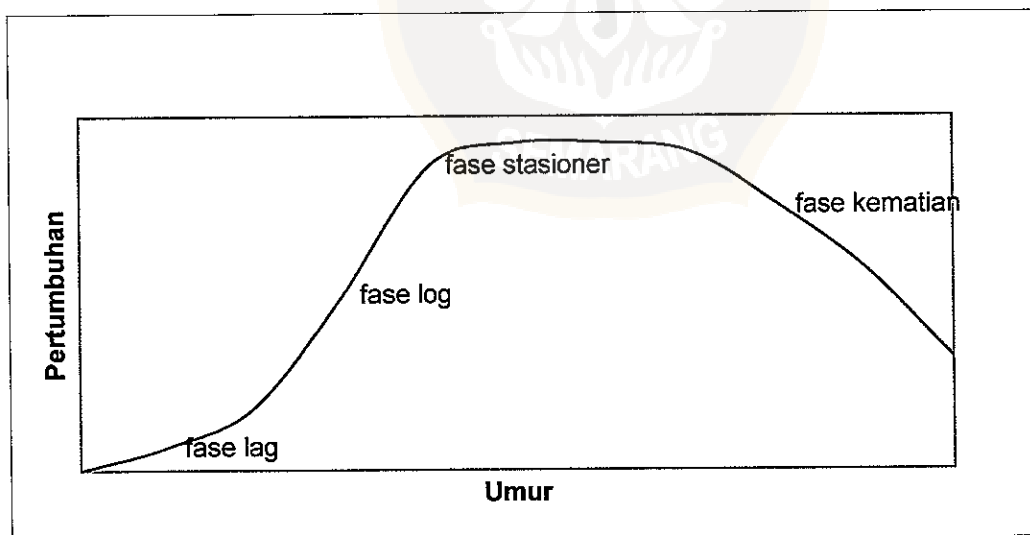
Khamir merupakan organisme bersel tunggal (uniseluler) yang termasuk “fungi” dan umumnya perbanyak sel terjadi melalui proses pertunasan (“budding”). Khamir biasanya tidak membentuk filamen atau miselium, populasi sel khamir merupakan kumpulan dari beberapa sel tunggal. Sel khamir dengan lebar 1–9 μm dan panjang 2–20 μm mempunyai ukuran yang lebih besar dari sel bakteri dan dapat dibedakan berdasarkan ukuran dan struktur selnya yang sangat jelas (Brock *et al.*, 1979).

Sel khamir mempunyai bermacam–macam bentuk yang biasanya menunjukkan karakteristik dari spesiesnya. Beberapa bentuk khamir, diantaranya elips atau bulat telur seperti bentuk buah jeruk lemon, bulat atau sferoid. Khamir tidak memiliki flagela, sehingga tidak dapat melakukan gerakan aktif. Bentuk sel khamir tetap sehingga dapat membantu untuk identifikasi (Rahayu dan Sudarmadji, 1980).

Kenampakan pertumbuhan sel khamir pada media penting untuk identifikasi, misalnya terbentuk lapisan tipis (film) menunjukkan adanya khamir jenis oksidatif atau “film yeast”, sedangkan khamir yang berwarna misalnya genus *Rhodotorula* dengan warna yang berupa karotenoid (merah orange) (Rahayu dan Sudarmadji, 1980).

2.2. Pertumbuhan Khamir

Menurut Kratochvilova (1990), pertumbuhan sel khamir berarti bertambahnya volume atau ukuran sel, jumlah sel maupun biomasanya. Pertumbuhan ini dapat digambarkan sebagai sebuah kurva logaritmik. Jumlah sel pada waktu inkubasi tertentu dapat diamati dengan mengukur densitas optik kultur tersebut. Jumlah sel atau biomassa sel diplotkan pada sumbu ordinat, sedangkan waktu (jam) diplotkan pada sumbu absis. Kurva pertumbuhan ini menunjukkan adanya perubahan kultur khamir selama fase-fase yang berbeda dalam siklus pertumbuhannya. Siklus pertumbuhan khamir tidak jauh berbeda dengan siklus pertumbuhan dari mikroorganisme yang lain. Fase-fase dalam siklus pertumbuhan terdiri atas fase lag (fase adaptasi), fase logaritmik (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian (Gambar 01).



Gambar 01. Kurva pertumbuhan mikrobia (Fardiaz, 1992)

Mikrobia dapat tumbuh dan berkembang dengan baik bila medium yang digunakan memenuhi syarat, antara lain mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan, pH yang sesuai untuk pertumbuhan serta steril untuk menghindari kontaminasi (Suriawiria, 1986).

Menurut Kratochvilova (1990), khamir membutuhkan nutrisi yang tepat untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya. Khamir memperoleh nutrisi dari lingkungan yang tersedia dalam media pertumbuhannya. Komponen utama nutrisi khamir adalah : air, sumber karbon, sumber nitrogen, elemen-elemen penting untuk pembentukan bahan sel (berupa elemen biogenik : oksigen, hidrogen, fosfor, magnesium dan kalsium), elemen-elemen yang dibutuhkan dalam jumlah kecil ("trace element" dan vitamin). Air menyusun lebih dari 85% massa sel, untuk medium khamir harus memiliki kandungan air yang cukup, sedikitnya 30% untuk bentuk khamir dan 20% untuk bentuk hifa.

Sifat-sifat fisiologis khamir secara umum adalah kebutuhan akan air lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri pada umumnya, sedangkan beberapa jenis khamir membutuhkan air lebih banyak dibanding dengan jamur. Jenis khamir tertentu mempunyai persyaratan A_w yang rendah, yaitu yang tergolong dalam osmofilik. Interval A_w untuk pertumbuhan secara normal adalah 0,88–0,94, sedangkan untuk khamir osmofilik adalah 0,62–0,65. Temperatur pertumbuhan khamir yang optimal antara 25–30,5⁰C, maksimal temperatur pertumbuhan adalah 35–47,5⁰C. Derajat keasaman optimal antara 4,0–6,5 dan tidak dapat tumbuh dengan baik pada medium yang bersifat alkalis (Rahayu dan Sudarmadji, 1980).

Kecepatan pertunasan khamir sangat penting untuk mendapatkan biomassa yang maksimal, terutama apabila medium sintesis digunakan sebagai substrat. Kecepatan pertunasan dapat diketahui dari jumlah sel atau biomassa yang diproduksi pada keadaan dan interval waktu tertentu (Kratochvilova, 1990).

2.3. *Rhodotorula mucilaginosa*

Carlile dan Watkinson (1994) mengklasifikasikan *Rhodotorula mucilaginosa* sebagai berikut :

Kingdom	:	Fungi
Phylum	:	Eumycota
Classis	:	Deuteromycetes (Fungi Imperfecti)
Order	:	Cryptococcales
Familia	:	Cryptococcaceae
Genus	:	<i>Rhodotorula</i>
Species	:	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>

Menurut Fardiaz (1992), *Rhodotorula sp* merupakan jenis khamir yang bersifat oksidatif kuat, yaitu tidak dapat melakukan fermentasi alkohol, bersifat aerob dan terdapat pseudomiselium. Khamir jenis ini tidak membentuk filamen atau miselium, populasi selnya merupakan kumpulan dari beberapa sel tunggal. Sel khamir mempunyai ukuran yang lebih besar dari sel bakteri dan dapat dibedakan berdasarkan ukuran dan kehadiran struktur selnya yang jelas. Khamir hidup pada habitat yang mengandung gula dengan konsentrasi yang cukup pada buah, bunga dan kulit kayu. Sel khamir memiliki ukuran yang sangat bervariasi,

tergantung dari spesies, nutrisi dan umur. Biasanya sel khamir memiliki ukuran lebar 1–9 mikron dan panjang 2–20 mikron.

Genus *Rhodotorula* mempunyai warna merah, kuning, dan oranye, serta menyebabkan perubahan warna bahan pangan (Rahayu dan Sudarmadji, 1980). Khamir jenis ini dapat digunakan sebagai sumber lipid, protein dan β -carotene. A_w (Activity Water) minimum untuk pertumbuhannya adalah 0,89–0,92, memiliki temperatur minimum 0,5–5⁰C dan maksimum 35⁰C, tumbuh optimum pada suhu 29–30⁰C (Frengova *et al.*, 1997).

2.4. Karotenoid

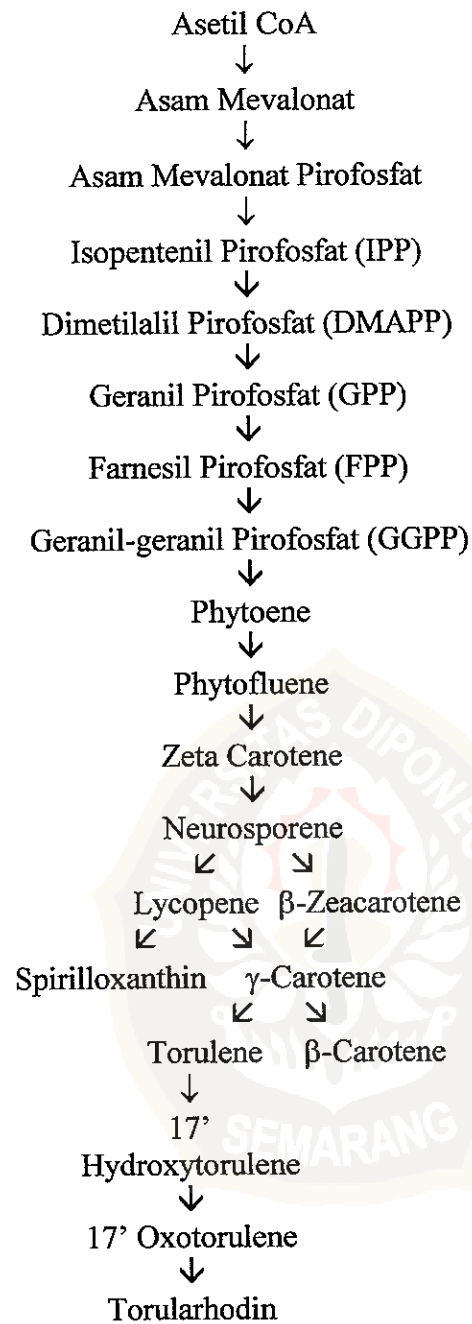
Senyawa karotenoid terbagi dalam tiga kelompok besar, yaitu senyawa-senyawa karoten, yang merupakan hidrokarbon; senyawa-senyawa xantofil, yang merupakan turunan karoten teroksidasi; dan asam karotenat yang diperoleh dari oksidasi degradatif dari karoten C₄₀ sehingga jumlah atom karbonnya tereduksi beberapa untai dan terbentuk satu atau dua gugus karboksilat (Manitto, 1981).

Karoten termasuk kelompok senyawa terpenoid dengan jumlah karbon sebanyak lima unit. Warna yang ditimbulkan oleh senyawa ini sangat bervariasi tergantung dari jumlah rantai polyene berganda dari molekul yang dikenal sebagai khromofor (Frengova *et al.*, 1997).

Sintesis karotenoid dimulai dengan adanya asam mevalonat, suatu senyawa dengan enam karbon yang memiliki rantai cabang konfigurasi isoprenoid, yang berasal dari tiga molekul asetil Ko-A. Asam mevalonat akan

diubah menjadi derivat pirofosfat dan dikarboksilasi menghasilkan isopentenil pirofosfat dengan cabang lima karbon, yang memiliki unit dasar isoprenoid (Gambar 02). Senyawa antara ini lalu diubah menjadi komponen C₄₀. Reaksi terakhir rantai C₄₀ akan disusun kembali dan berubah menjadi karotenoid yang spesifik (Schmidt-Dannert *et al.*, 2000).





Gambar 02. Jalur sintesis karotenoid pada khamir (Schmidt-Dannert *et al.*, 2000).

2.5. Agitasi

Khamir dan mikrobia menggunakan oksigen dalam bentuk oksigen terlarut. Oksigen tidak bisa disimpan dalam bentuk nutrien, sehingga harus diberikan dalam medium dengan proses agitasi atau melalui transfer oksigen langsung dari tabung. Oksigen terlarut dalam medium cair dapat ditingkatkan dengan menyediakan ruangan besar antar gas dan medium. Salah satu cara untuk mencapai hal tersebut adalah dengan agitasi dari medium cair dengan “shaking” baik secara resiprok (bolak-balik) maupun sirkular (Schlegel, 1992).

Proses agitasi bertujuan untuk mensuplai oksigen kedalam medium pertumbuhan yang berupa cairan serta untuk menghomogenkan nutrien (Solomon *et al.*, 1986). Agitasi medium merupakan proses mekanik yang sering dilakukan pada proses fermentasi dan kultur jaringan. Kecepatan agitasi yang telah digunakan dalam proses fermentasi pada *Rhodotorula glutinis* berkisar 220 rpm dengan menghasilkan karotenoid sebesar 268 µg/g berat kering sel (Frengova *et al.*, 1997). Alat yang biasa digunakan untuk proses agitasi pada skala kecil biasanya berupa “shaker”, sedangkan untuk skala yang lebih besar menggunakan suplai oksigen misalnya aerator. Konsentrasi oksigen pada cairan akan menjadi lebih rendah karena adanya aktivitas metabolik dari organisme-organisme aerob (Charlile and Watkinson, 1994).

2.6. Derajat Keasaman (pH)

Setiap khamir mempunyai kisaran pH tertentu untuk pertumbuhannya dan biasanya disebut pH optimum. Khamir lebih menyukai pH sedikit asam yaitu 4–6 dan dapat tumbuh pada pH rendah dimana pertumbuhan mikrobia lain seperti bakteri menjadi terhambat (Fardiaz, 1992).

Menurut Costa *et al.* (1987), bahwa pH akan berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang akan mengkatalisis reaksi-reaksi metabolisme dalam sel dan berpengaruh juga dalam permeabilitas membran sel. Frengova *et al.*, (1997) menyatakan bahwa pH akan mempengaruhi aktivitas-aktivitas protein yang terikat pada membran plasma, termasuk didalamnya enzim-enzim.

2.7. Air Kelapa

Air kelapa merupakan endosperm dalam bentuk cair yang mengandung unsur hara dan pengatur tumbuh. Dalam air kelapa terkandung substansi pertumbuhan, mineral dan vitamin (Duke, 1983). Kandungan gula tertinggi terjadi pada waktu buah kelapa masih muda, sehingga air terasa manis, dan semakin tua rasa tersebut akan semakin berkurang. Air kelapa selain mengandung kalori, protein dan mineral diperkirakan juga mengandung zat yang disebut sitokinin yang bersifat hormon, sehingga dapat mengaktifkan kegiatan jaringan atau sel-sel hidup (Suhardiman, 1994). Komposisi kimia air kelapa tertera pada Tabel 01.

Tabel 01. Komposisi kimia air kelapa

Komponen	Duke (1983)	Anonim (1989)
Air	95%	95.5%
Karbohidrat	4.0%	3.8 g/100mL
Protein	0.1%	0.1 g/100mL
Lemak	0.1%	0.1 g/100mL
Abu	0.1%	
Energi		17 kal/100mL
Potassium	312 mg/100g	
Sodium	105 mg/100g	
Magnesium	30 mg/100g	
Kalsium	29 mg/100g	15 mg/100mL
Besi	0.1 mg/100g	0.2 mg/100mL
Tembaga	0.04 mg/100g	
Fosfor	37 mg/100g	8 mg/100mL
Sulfur	24 mg/100g	

(Duke, 1983; Anonim, 1989)

Menurut Grimwood (1979), karbohidrat yang terkandung dalam air kelapa terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa. Komposisi karbohidrat dalam air kelapa selengkapnya tertera pada Tabel 02.

Tabel 02. Komposisi karbohidrat dalam air kelapa

Komponen	Kadar (%)
Glukosa	0.75
Fruktosa	0
Sukrosa	1.89

(Grimwood, 1979)

2.8. Hipotesis

Pertumbuhan dan produksi pigmen karotenoid *Rhodotorula muciliginosa* UICC Y-18 sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain : pH awal medium dan suplai oksigen. Perlakuan pH awal medium dan kecepatan agitasi yang tepat serta interaksi keduanya dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi pigmen karotenoid khamir ini.