

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Khamir

Khamir adalah salah satu organisme uniseluler yang termasuk dalam kingdom fungi. Khamir biasanya tidak membentuk filamen atau miselium. Khamir hidup pada habitat yang cukup banyak mengandung gula, seperti pada bunga, buah, dan kulit kayu (Brock *et al.*, 1984). Khamir dapat dibedakan dengan bakteri dari ukuran selnya yang lebih besar dan bentuknya yang oval, memanjang atau bentuk ellips. Cara perbanyak sel dengan cara membentuk tunas atau pembelahan sel. Umumnya khamir dapat tumbuh pada kisaran pH 5-6 dan pada konsentrasi etanol sampai dengan 18%. Beberapa khamir juga dapat tumbuh pada kadar sukrosa 55–60% (Jay, 1991).

Kenampakan pada pertumbuhan sel khamir adalah salah satu bagian penting dalam identifikasi, misalnya terbentuk lapisan tipis yang menunjukkan adanya khamir jenis oksidatif, sedangkan khamir yang berwarna biasanya termasuk dari genus *Phaffia* dan *Rhodotorula*, dengan warna merah oranye yang merupakan karotenoid (Rahayu dan Sudarmadji, 1980).

2.2. Pertumbuhan Khamir

Pertumbuhan sel khamir berarti bertambahnya volume, ukuran sel, dan jumlah selnya. Pertumbuhan ini dapat digambarkan sebagai sebuah kurva logaritmik. Jumlah sel pada waktu inkubasi tertentu dapat diamati dengan

mengukur densitas optik kultur dan berat kering sel tersebut. Jumlah sel atau biomassa sel diplotkan pada sumbu ordinat, sedangkan waktu (jam) diplotkan pada sumbu absis. Kurva pertumbuhan ini menunjukkan adanya perubahan sel khamir selama fase-fase yang berbeda dalam siklus pertumbuhannya. Fase-fase dalam siklus pertumbuhan terdiri atas fase lag, fase logaritmik (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian (Kratochvilova, 1990).

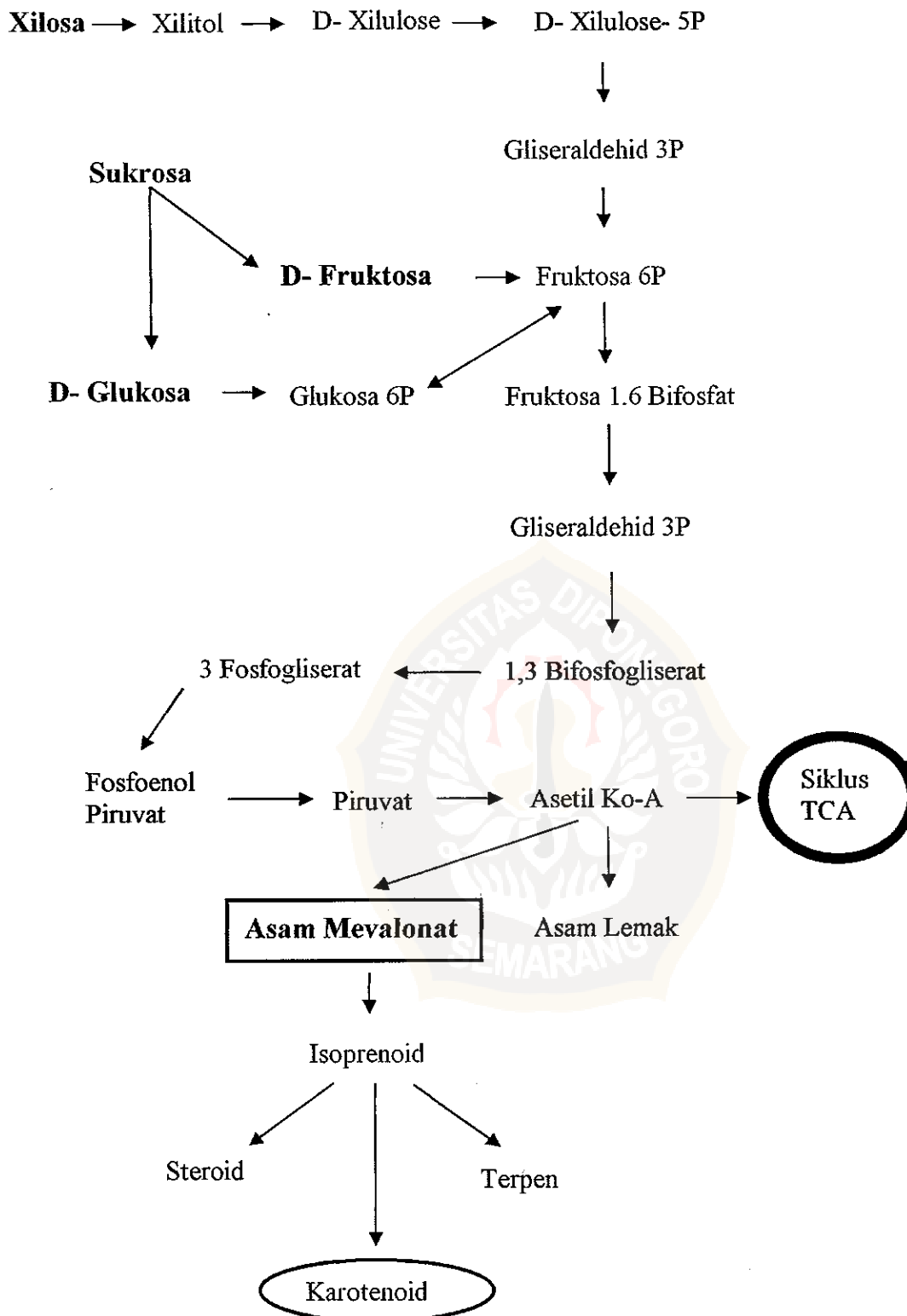
Kratochvilova (1990), menyatakan bahwa pertumbuhan khamir membutuhkan nutrisi yang cukup dan sesuai. Sel akan mengambil nutrisi dari lingkungannya atau medium. Nutrisi dasar yang dibutuhkan oleh khamir adalah air, karbon, dan nitrogen. Khamir juga memerlukan elemen-elemen penting lainnya, yaitu : elemen biogenik (oksigen, hidrogen, fosfor, dan magnesium), elemen oligobiogenik ("trace elemen", seperti : Cu, Zn, Fe, dsb) yang dibutuhkan dalam jumlah kecil. Penambahan elemen oligobiogenik ini pada jumlah yang tepat dalam media pertumbuhan dapat meningkatkan proliferasi sel khamir, tapi sebaliknya apabila penambahan dalam jumlah yang terlalu banyak akan menghambat pertumbuhan sel khamir.

Khamir merupakan organisme kemoheterotrof yang membutuhkan karbon dan nitrogen. Sumber karbon umumnya dalam bentuk monosakarida ataupun disakarida (Kratochvilova, 1990).

2.3. Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen berwarna merah oranye yang biasanya berkaitan dengan klorofil pada tumbuhan. Pigmen ini diproduksi oleh phytoplankton, alga, jamur dan lumut. Beberapa mikroorganisme yang menghasilkan pigmen ini biasanya dari genus *Rhodotorula* dan *Phaffia* (Phaff *et al.*, 1978). Karotenoid merupakan hasil metabolisme sekunder dan disintesis melalui jalur asam mevalonat dengan prekursor asetil Ko-A (Turner, 1971).

Karotenoid utama yang dihasilkan oleh *P. rhodozyma* adalah astaxanthin. Astaxanthin merupakan senyawa oksikarotenoid dengan berat molekul 596,86 g/mol dan rumus kimia $C_{40}H_{52}O_4$. Pigmen ini sangat penting bagi sektor akuakultur, terutama hewan-hewan yang tidak dapat mensintesis pigmen karotenoid sendiri, sehingga harus diberikan sebagai makanan tambahan untuk dapat menimbulkan warna khas dari produk akuakultur. Astaxanthin adalah pigmen intraseluler di dalam *P. rhodozyma* dan merupakan metabolit sekunder. Astaxanthin diproduksi terutama selama fase eksponensial dan pada saat kekurangan nutrisi (Johnson and Lewis, 1979).



Gambar 01. Jalur Biosintesis Karotenoid (Brock *et al.*, 1984; Lehninger, 1995)

2.4. *Phaffia rhodozyma*

Klasifikasi khamir *P. rhodozyma* menurut Phaff *et al.* (1978) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi

Divisi : Eumycota

Subdivisi : Deuteromycotina

Famili : Cryptococcoceae

Genus : *Phaffia*

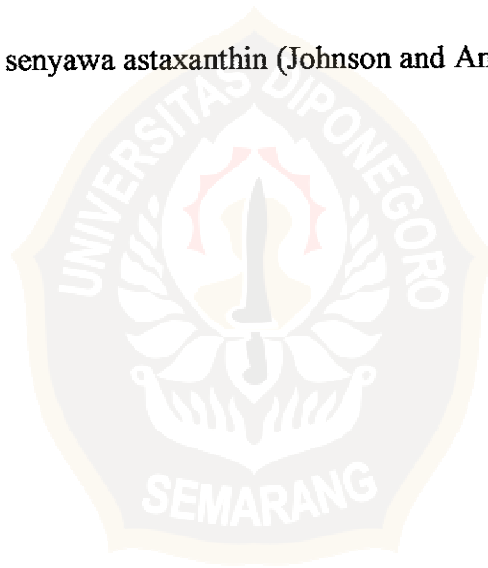
Species : *Phaffia rhodozyma*

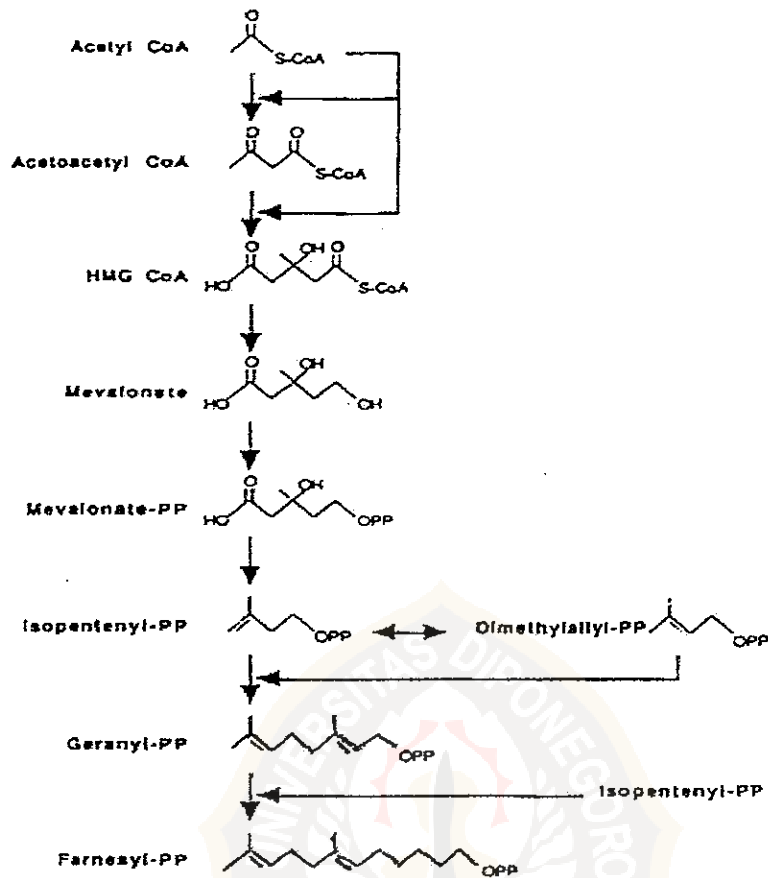
Sel *P. rhodozyma* berbentuk ellipsoidal; tunggal, sepasang atau dalam rantai pendek; membentuk pseudomiselium; reproduksi dengan pertunasan; terdapat klamidospora; koloni berwarna merah oranye atau merah muda salmon karena adanya sintesis pigmen karotenoid, terutama astaxanthin

Menurut Johnson and An (1991), *P. rhodozyma* dalam memproduksi karotenoid dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti : nutrien yang cukup, aerasi, suhu, pH, media, dan cahaya. *P. rhodozyma* dapat tumbuh dengan optimal pada kisaran pH 5-6 (termasuk kelompok acidofil). Suhu yang diperlukan *P. rhodozyma* untuk dapat tumbuh bisa mencapai 27⁰C, tetapi suhu optimal untuk dapat memproduksi pigmen adalah 22⁰C. Selain suhu dan pH, cahaya juga sangat penting peranannya dalam proses sintesis karotenoid oleh berbagai mikroorganisme. Pada beberapa khamir, pencahayaan bersama-sama dengan adanya O₂ merupakan suatu inducer yang baik pada proses karotenogenesis.

Pertumbuhan dan produksi pigmen dapat dihambat oleh cahaya kuat, tetapi sebaliknya dapat diinduksi oleh cahaya lemah, seperti cahaya biru.

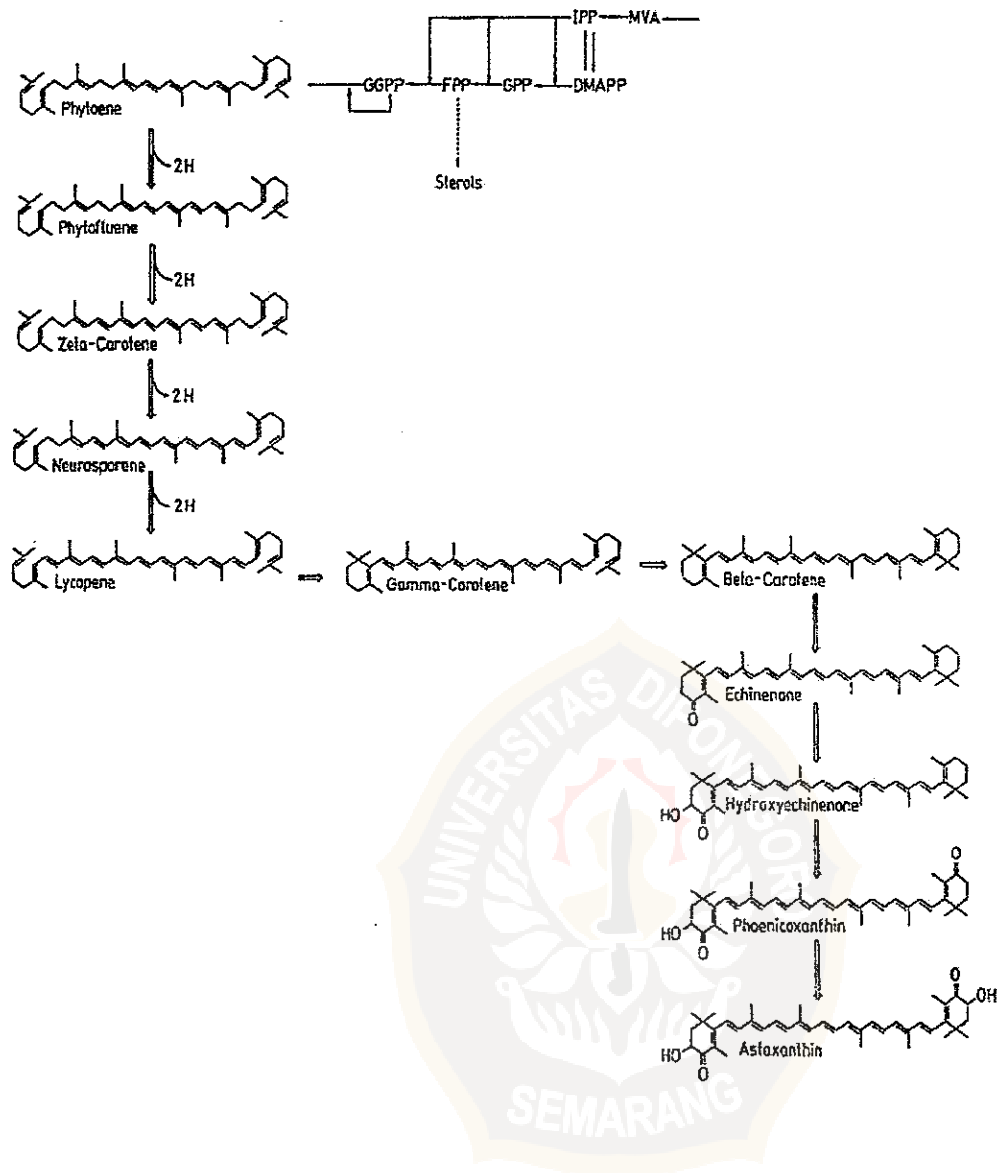
Sintesis karotenoid tidak dapat terlepas dari metabolisme primer, meskipun karoten merupakan hasil dari metabolit sekunder (Phaff *et al.*, 1978). *P. rhodozyma* mengawali sintesis karotenoid dengan adanya senyawa asetil CoA. Melalui jalur mevalonat, senyawa ini membentuk senyawa farnesil pirofosfat yang terjadi melalui bantuan enzim Hidroksimetil Glutarat-CoA Sintetase (HMGS) dan Hidroksimetil Glutarat-CoA Reduktase (HMGR). Setelah mengalami proses siklisasi, dekarboksilasi dan fosforilasi oksidatif, senyawa farnesil-pp akan membentuk senyawa astaxanthin (Johnson and An, 1991).





Gambar 02. Jalur Mevalonat hingga farnesil – PP (Johnson and An, 1991)

Sintesis astaxanthin dilanjutkan mulai dari farnesil pirofosfat berlanjut membentuk geranyl-geranyl pirofosfat menjadi fitoena. Atom hidrogen akan dibuang pada setiap pembentukan pitofluen, zeta-karoten, neurosporen dan likopen. Pigmen astaxanthin terbentuk melalui proses pembentukan siklisasi likopen menjadi gamma-karoten, beta-karoten, echinenon, hidroksiechinenon dan phoenikasanthin.



Gambar 03. Jalur biosintesis astaxanthin pada *P. rhodozyma* (Girard *et al.*, 1993)

Menurut Luhur (2001), astaxanthin alami memiliki 550 kali aktivitas antioksidan dari vitamin E dan vitamin C, serta 10 kali aktivitas antioksidan dari β -karoten dan jenis-jenis karoten yang lain. Fungsi lain dari astaxanthin bagi manusia dan binatang antara lain adalah:

- melindungi kulit dari efek radiasi sinar UV yang merusak
- mengurangi keriput dan proses penuaan
- mencegah terjadinya kanker akibat penggunaan bahan kimia
- meningkatkan produksi High-density lipoprotein (HDL)
- meningkatkan sistem kekebalan dan sistem metabolisme

2.5. Air Kelapa

Air kelapa mulai diproduksi oleh kelapa berumur 5 bulan, dengan volume sekitar 400 mL atau setara dengan 2 gelas dan merupakan cairan yang mempunyai rasa manis karena mengandung gula. Air kelapa juga mengandung 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 mengandung kalori, protein dan mineral. Jumlah air kelapa semakin berkurang dengan pertambahan umur buahnya. Demikian pula warna airnya, semakin tua buah, semakin keruh warna air kelapa (Suhardiman, 1994). Tabel 01 menunjukkan komposisi air kelapa.

Tabel 01. Komposisi kimia air kelapa

Komponen	Duke (1983)
Air	95%
Karbohidrat	4.0%
Protein	0.1%
Lemak	0.1%
Abu	0.1%
	mg/100g
Potassium	312,00
Sodium	105,00
Magnesium	30,00
Kalsium	29,00
Besi	0,10
Tembaga	0,04
Fosfor	37,00
Sulfur	24,00
Kolin	183,00

(Duke, 1983)

Menurut Grimwood (1979) karbohidrat yang terkandung dalam air kelapa muda, terdiri dari glukosa dan sukrosa. Komposisi karbohidrat dalam air kelapa selengkapnya sebagai berikut (Tabel 02).

Tabel 02. Komposisi karbohidrat dalam air kelapa

Komponen	Kadar (%)
Glukosa	0.75
Sukrosa	1.89

(Grimwood, 1979)

2.6. Xilosa

Xilosa merupakan monosakarida sederhana yang mengandung atom karbon anomer bebas yang mampu mereduksi senyawa-senyawa pengoksidasi, sehingga xilosa adalah salah satu gula pereduksi (Lehninger, 1995).

Xilosa merupakan salah satu sumber karbon yang dapat digunakan dalam media pertumbuhan *P. rhodozyma* untuk proliferasi. Sumber karbon ini bisa didapat dengan mudah pada skala besar dari tepung, material lignoselulosa, gula bit atau tebu. *P. rhodozyma* yang ditumbuhkan pada media mengandung xilosa sebagai sumber karbon mampu menghasilkan konsentrasi pigmen karotenoid yang tinggi dan kandungan astaxanthin yang besar dibandingkan dengan sumber karbon yang lain seperti glukosa dan sukrosa. Glukosa yang terdapat dalam medium akan mendukung peningkatan pertumbuhan, tetapi produksi pigmennya masih kurang baik jika dibandingkan dengan produksi pigmen *P. rhodozyma* yang tumbuh pada medium yang mengandung xilosa (Vázquez *et al.*, 1997).

2.7. HIPOTESA

Xilosa merupakan salah satu sumber karbon penting yang dibutuhkan oleh khamir penghasil pigmen. Penambahan xilosa pada konsentrasi tertentu dalam air kelapa sebagai medium pertumbuhan dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi pigmen karotenoid pada *P. rhodozyma* yang merupakan salah satu khamir penghasil pigmen karotenoid.