

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1. Tinjauan Umum Khamir

Khamir adalah organisme uniseluler yang termasuk dalam golongan *fungi*. Khamir biasanya tidak membentuk filamen atau miselium dan populasi selnya merupakan kumpulan dari beberapa sel tunggal. Ukuran sel khamir lebih besar dari sel bakteri dan dapat dibedakan berdasarkan ukuran dan kehadiran struktur selnya yang sangat jelas. Khamir hidup pada habitat yang mengandung cukup gula, seperti pada buah, bunga dan kulit kayu (Brock *et al.*, 1994).

Khamir dapat berkembang biak secara bertunas (“budding”), pembelahan, pembentukan spora aseksual, konjugasi atau reproduksi seksual. Pembentukan tunas terjadi setelah sel mencapai ukuran tertentu, dimulai ketika sentrosom membentuk tonjolan yang mendesak sitoplasma, sehingga terjadi tonjolan pada sel. Tonjolan tersebut kemudian tumbuh membesar diikuti masuknya bagian-bagian inti ke dalam tonjolan, terjadi pembentukan sekat pada bekas tonjolan kemudian terbentuk sel anakan. Setelah tonjolan tersebut cukup dewasa maka sel anakan segera melepaskan diri (Rahayu dan Sudarmadji, 1980).

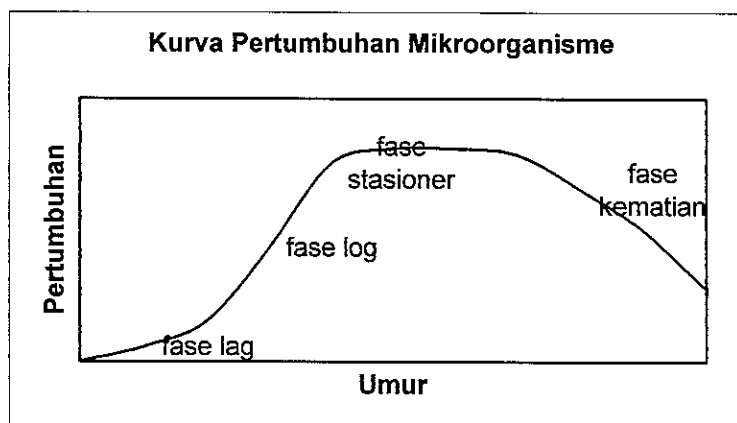
Sel khamir memiliki ukuran yang sangat bervariasi tergantung dari spesies, nutrisi atau umur sel khamir. Umumnya sel khamir memiliki ukuran diameter 1-9 μm dan panjang 2-20 μm . Beberapa spesies khamir bersifat oksidatif kuat, yaitu tidak dapat melakukan fermentasi alkohol. Khamir semacam ini bersifat aerob, misalnya *Rhodotorula* (Fardiaz, 1992).

Beberapa bentuk khamir di antaranya adalah bulat atau sferoid, elips atau bulat telur, batang atau silindris, seperti buah jeruk (lemon). Khamir tidak memiliki flagela, sehingga tidak dapat melakukan gerakan aktif. Bentuk sel khamir tetap sehingga dapat membantu untuk identifikasi. Kenampakan pertumbuhan sel khamir pada semua bagian media penting untuk identifikasi, untuk khamir yang berwarna adalah genus *Rhodotorula* dengan warna berupa karotenoid (merah oranye) (Rahayu dan Sudarmadji, 1980).

2.2. Pertumbuhan Khamir

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

Pertumbuhan sel khamir berarti bertambahnya volume atau ukuran sel, jumlah sel ataupun berat kering selnya. Pertumbuhan dapat digambarkan sebagai kurva logaritma. Jumlah sel pada waktu inkubasi dapat diamati dengan menggunakan densitas optik kultur tersebut. Jumlah sel/berat kering sel diplotkan pada sumbu ordinat, sedangkan waktu (jam) diplotkan pada sumbu absis. Kurva pertumbuhan menunjukkan adanya perubahan kultur khamir selama fase yang berbeda dalam siklus pertumbuhannya. Fase-fase dalam siklus pertumbuhan terdiri atas fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian (Brook *et al.*, 1995).



Gambar 01. Kurva pertumbuhan mikroorganismes (Fardiaz, 1992)

Sel khamir membutuhkan sejumlah nutrisi yang cukup dan sesuai untuk pertumbuhan dan memperbanyak sel serta produksi pigmen karotenoidnya. Sel akan mengambil nutrisi dari lingkungan atau medium. Nutrisi dasar yang dibutuhkan oleh khamir adalah air, karbon dan nitrogen. Khamir juga membutuhkan elemen-elemen penting lain, yaitu elemen biogenik untuk pembentukan organel-organel sel (oksigen, hidrogen, fosfor, dan magnesium), elemen oligobiogenik ("trace element" atau mikroelemen) yang dibutuhkan dalam jumlah kecil, seperti vitamin dan substansi pertumbuhan lain (Kratochvilova, 1990).

Khamir umumnya membutuhkan air lebih sedikit dibanding dengan bakteri. Beberapa jenis khamir membutuhkan air lebih banyak dibandingkan dengan jamur. Jenis khamir tertentu mempunyai persyaratan A_w ("Water Activity") 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 25-30,5°C; temperatur maksimal adalah 35-47,5°C. pH optimal

antara 4,0-4,5 dan tidak dapat tumbuh baik pada media yang bersifat alkalis (Rahayu dan Sudarmadji, 1980).

2.3. Karakteristik *Rhodotorula mucilaginosa*

Kedudukan *R. mucilaginosa* dalam taksonomi menurut Charlile and Watkinson (1994) adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Fungi
Phylum	:	Eumycota
Class	:	Deuteromycetes
Order	:	Cryptococcales
Family	:	Cryptococcaceae
Genus	:	<i>Rhodotorula</i>
Spesies	:	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>

Rhodotorula adalah khamir yang banyak ditemukan di udara, tanah, danau perairan dan pada produk-produk susu seperti keju, mentega dan yoghurt. Koloni khamir ini bersifat halus, mengkilap atau keruh, beberapa permukaan kasar, lembut dan mucoid serta mempunyai pertumbuhan yang sangat cepat. Warna koloni krem sampai merah muda, merah coral, oranye atau kuning. *R. mucilaginosa* berkembang biak dengan pembentukan tunas melalui pembelahan multilateral (Luhur, 2001).

Rhodotorula memiliki ukuran sel dengan diameter 2,5-5,5 μm dan panjang 5-10 μm . Khamir ini memiliki sifat oksidatif kuat, yaitu tidak dapat melakukan fermentasi alkohol, bersifat aerob dan mampu menghasilkan pigmen

karotenoid (Fardiaz, 1992). Khamir jenis ini juga dapat digunakan sebagai sumber lipid, protein (sistein dan metionin) dan β -karoten. Khamir ini dapat tumbuh pada kondisi dengan A_w minimum 0,89-0,92, temperatur minimum 0,5-5°C dan maksimum 35°C (Frengova *et al.*, 1997).

Rhodotorula sp. tumbuh cepat pada temperatur rendah, oleh karena itu khamir ini dapat menyebabkan kerusakan pada produk-produk susu, seperti yoghurt, mentega, krim dan keju, juga dapat menyebabkan kerusakan pada ikan dan kerang, yaitu dengan adanya noda berwarna merah muda pada permukaan produk tersebut. Selain itu khamir ini juga dapat merusak produk daging, baik daging segar maupun awetan (Pitt and Hocking, 1999).

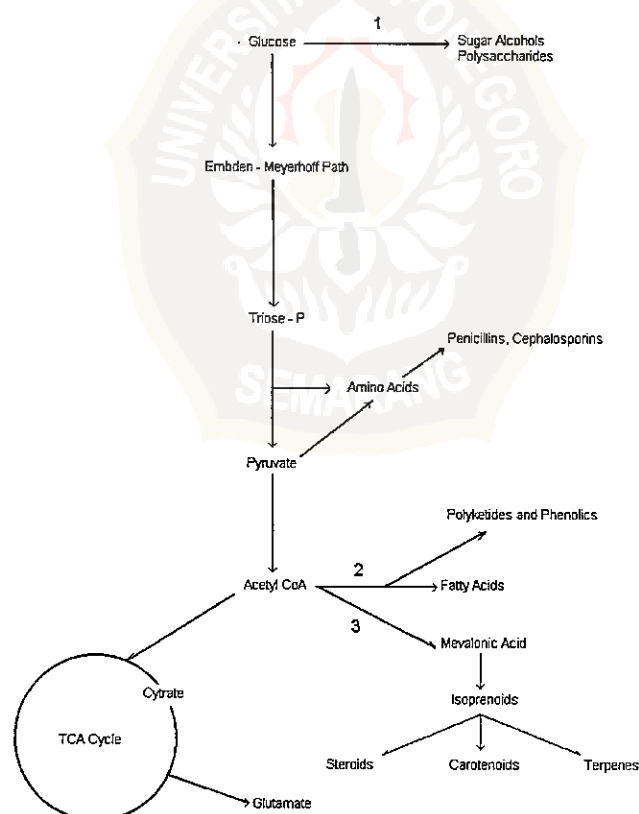
2.4. Karotenoid

Karotenoid adalah suatu kelompok dari substansi-substansi lipid yang memiliki sebuah karakteristik warna merah oranye atau oranye. Substansi tersebut berperan terhadap pigmentasi pada wortel ("carrot") disinilah nama karotenoid berasal (Hawker, 1950).

Pigmen karotenoid merupakan pigmen terpenting dan terbanyak yang ada di alam. Hanya tanaman dan mikroorganisme saja yang dapat mensintesis pigmen ini. Senyawa ini, karena kemampuannya memberikan warna dan sifatnya yang relatif stabil, secara luas telah digunakan sebagai antioksidan dalam skala industri, khususnya industri pengolahan bahan makanan. Karotenoid termasuk kelompok senyawa terpenoid dengan jumlah karbon sebanyak lima unit. Warna yang ditimbulkan oleh senyawa ini sangat bervariasi tergantung dari panjangnya

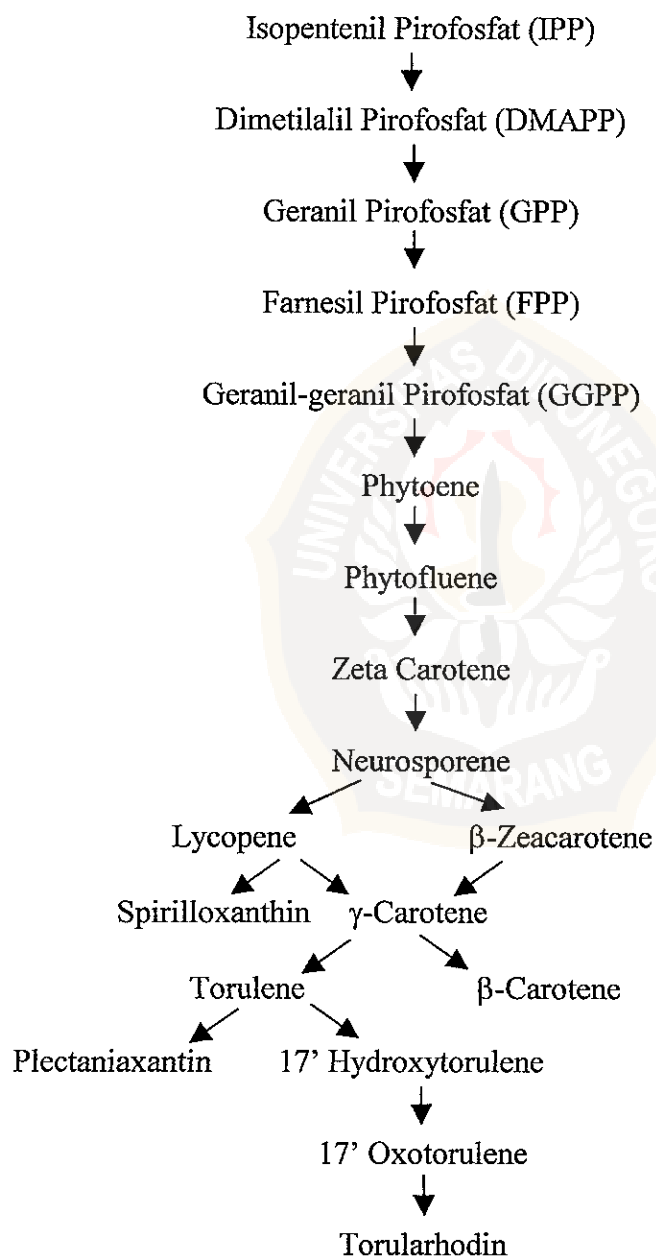
kromofor dan jenis ikatan oksigennya yang terkandung di dalamnya (Frengova *et al.*, 1997).

Karotenoid disintesis melalui jalur asam mevalonat. Sintesis karotenoid tidak terlepas dari metabolisme primer, sekalipun karotenoid merupakan metabolit sekunder (Griffin, 1981). Senyawa karotenoid terbagi dalam tiga kelompok besar, yaitu senyawa-senyawa karoten, yang merupakan hidrokarbon; senyawa-senyawa xantofil, yang merupakan turunan karbon teroksidasi; dan asam karotenat yang diperoleh dari oksidasi degradatif dari karotena C_{40} sehingga jumlah atom karbonnya tereduksi beberapa untai dan terbentuk satu atau dua gugus karboksilat (Manitto, 1981).



Gambar 02. Hubungan antara metabolisme primer dan sekunder. (1) jalur metabolit derivat glukosa; (2) jalur asetat malonat; (3) jalur asam mevalonat (Griffin, 1981).

Sintesis karotenoid dimulai dengan adanya senyawa asetil Ko-A yang diubah menjadi rantai C-5 terpenoid (isopentenil pirofosfat) melalui serangkaian reaksi. Senyawa antara ini lalu diubah menjadi komponen C-40. Reaksi terakhir rantai C-40 akan disusun kembali dan berubah menjadi karotenoid yang spesifik (Phaff *et al.*, 1978).



Gambar 03. Jalur biosintesis karotenoid pada khamir (Simpson *et al.*, 1971).

2.5. Air Kelapa

Air kelapa adalah cairan jernih yang mengisi \pm tiga perempat bagian rongga sebelah dalam dari buah kelapa dengan pH yang beragam antara 4,8–5,3. Air kelapa mulai diproduksi oleh kelapa berumur 5 bulan, dengan volume sekitar 2 gelas, merupakan cairan yang mempunyai rasa manis karena mengandung gula. Air kelapa juga mengandung substansi pertumbuhan, mineral dan vitamin (Duke, 1983).

Nilai nutrisi yang terkandung dalam air kelapa cukup lengkap yaitu karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral. Menurut Grimwood (1979) karbohidrat yang terkandung dalam air kelapa tua, terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa. Komposisi karbohidrat dalam air kelapa selengkapnya terlihat pada tabel sebagai berikut :

Tabel 01. Kandungan karbohidrat dalam air kelapa tua (Grimwood, 1979)

Komponen	Kadar (%)
Glukosa	0,75
Fruktosa	0
Sukrosa	1,89

Kandungan gula tertinggi terjadi pada waktu buah kelapa masih muda sehingga air terasa manis, 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. Jumlah air kelapa semakin berkurang dengan pertambahan umur buahnya, yaitu 18 gram/buah sebelum buah

berdaging, 30 gram per buah muda dan 8-10 gram setiap buah tua. Warna air kelapa juga mengalami perubahan, semakin tua buah, semakin keruh warna air kelapa (Grimwood, 1979).

Komposisi air kelapa menurut Duke (1983) dan Anonim (1989) terlihat pada tabel sebagai berikut :

Tabel 02. Komposisi kimia air kelapa

Komponen	Duke (1983)	Anonim (1989)
Air	95%	95,5%
Karbohidrat	4,0%	3,8 g/100 mL
Protein	0,1%	0,1 g/100 mL
Lemak	0,1%	0,1 g/100 mL
Abu	0,1%	
Energi		17 kal/100 mL
Potassium	312 mg/100 g	
Sodium	105 mg/100 g	
Magnesium	30 mg/100 g	
Kalsium	29 mg/100 g	15 mg/100 mL
Besi	0,1 mg/100 g	0,2 mg/100 mL
Tembaga	0,04 mg/100 g	
Fosfor	37 mg/100 g	8 mg/100 mL
Sulfur	24 mg/100 g	
Kolin	183 mg/100 g	
Vitamin C		1 mg/100 mL

2.6. Sumber Mineral

Berbagai jenis mineral sangat dibutuhkan untuk berfungsinya suatu enzim.

Unsur magnesium diperlukan dalam jumlah sedikit dan memiliki efek yang besar

dalam sporulasi seperti potasium. Magnesium biasanya ditambahkan dalam bentuk magnesium sulfat yang bisa juga digunakan sebagai sumber sulfur. Pemberian mikroelemen magnesium pada medium yang aman antara 0,1-1 g/L (Hawker, 1950).

Ion magnesium dan ion ferro ditemukan pada turunan porfirin, magnesium dalam molekul klorofil dan besi sebagai bagian dari koenzim sitokrom dan peroksidase. Magnesium dan kalium merupakan mineral esensial untuk fungsi dan integritas ribosom. Formula untuk medium pemeliharaan organisme perlu mengandung sumber kalsium, kalium, magnesium dan besi, biasanya dalam bentuk ion (Brook *et al.*, 1995).

Menurut Brock *et al.* (1994), magnesium berfungsi untuk menstabilkan ribosom, membran sel dan asam nukleat dan juga dibutuhkan untuk mengaktifkan beberapa enzim khususnya yang terlibat dalam transfer fosfat. Kebanyakan peranan magnesium adalah untuk pertumbuhan.

2.7. Agitasi

Khamir menggunakan oksigen dalam bentuk oksigen terlarut. Oksigen tidak dapat disimpan dalam bentuk nutrien, tetapi harus diberikan secara kontinyu. Oksigen terlarut pada medium cair dapat ditingkatkan dengan menyediakan ruangan besar antara gas dan medium. Salah satu cara untuk mencapai cara tersebut adalah dengan agitasi dari medium cair dengan pengocokan (“shaking”) baik secara resiprok (bolak-balik) maupun sirkular (Schlegel and Schmidt, 1994).

Menurut Yamane *et al.* (1997), adanya suplai oksigen yang cukup akan mempengaruhi keseimbangan NADH di dalam sel. Pada kondisi oksigen yang terbatas terjadi akumulasi NADH, sehingga efisiensi fosforilasi oksidatif berkurang. Hal ini menyebabkan oksidasi NADH terhambat dan energi tidak efisien. Sejumlah besar NADH akan diproduksi sebagai hasil sampingan dalam proses sintesis pigmen dan akan terhambat jika terjadi akumulasi NADH. Untuk menjaga keseimbangan NADH dengan sel maka NADH yang terbentuk harus dioksidasi dengan memberikan suplai oksigen yang cukup. Dengan adanya oksigen, NADH akan dioksidasi menjadi NAD^+ dan tersedia cukup energi untuk pembentukan pigmen (Johnson and An, 1991).

2.8. Hipotesis

Penambahan magnesium sulfat dan kecepatan agitasi yang berbeda pada medium air kelapa berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi pigmen karotenoid *R. mucilaginosa* UICC Y-18. Penambahan magnesium sulfat dan kecepatan agitasi yang tepat akan menyebabkan pertumbuhan dan produksi pigmen karotenoid *R. mucilaginosa* UICC Y-18 optimal.