

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Khamir

Khamir merupakan organisme bersel tunggal (uniseluler) yang berbeda dengan jamur-jamur yang lain yang bersifat multiseluler, meskipun ini bukan cara yang tepat untuk mendefinisikannya. Khamir dapat dibedakan dengan bakteri dari ukuran selnya yang lebih besar dan bentuknya yang oval, memanjang, ellips atau bentuk sferikal. Cara perbanyak sel dengan cara membentuk tunas atau pembelahan sel. Pada umumnya khamir dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas dan pada konsentrasi etanol sampai dengan 18 %. Beberapa khamir juga dapat tumbuh pada kadar sukrosa 55 - 60 %. (Jay, 1991).

Ukuran sel khamir adalah mikroskopik. Sel-sel khamir mempunyai bermacam-macam bentuk yang biasanya menunjukkan karakteristik dari speciesnya. Bentuk sel akan berubah karena adanya pengaruh kondisi eksternal. Sebagai contoh, bentuk lemon atau bentuk ogival adalah karakteristik dari genera *Kloeckera*, *Hanseniaspora* dan *Brettanomyces*, bentuk sferikal, ovoid, memanjang, atau filamen biasanya mencerminkan kondisi eksternal seperti komposisi medium, keasaman, konsentrasi substrat, tegangan permukaan, potensial redoks, dan sebagainya. Bentuk dasar dari sel khamir adalah ellipsoid, perubahan bentuk yang umum terjadi adalah bentuk sferikal, memanjang, atau kadang-kadang filamen (Kratochvilova, 1990)

B. Pertumbuhan Khamir

Pertumbuhan sel khamir berarti bertambahnya volume atau ukuran sel, jumlah sel ataupun biomasanya. Pertumbuhan ini dapat digambarkan sebagai sebuah kurva logaritma. 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 dalam 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 mikroorganisme lainnya. Fase-fase dalam siklus pertumbuhannya terdiri atas fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian (Kratochvilova, 1990).

C. Nutrisi untuk Pertumbuhan Khamir

Menurut Kockova (1990), khamir membutuhkan nutrisi yang tepat untuk pertumbuhan dan penggandaan selnya. Khamir memperoleh nutrisi dari lingkungan yang tersedia dalam media pertumbuhannya. Komponen utama untuk 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).

C.1. Air

Air dalam media pertumbuhan terdapat dalam dua bentuk yaitu air terikat dan air bebas. Air terikat mendukung fungsi struktural sel, sedangkan air bebas

terutama berperan sebagai sarana transport dalam proses metabolisme (Kratochvilova, 1990).

C.2. Sumber Karbon

Khamir adalah organisme kemoheterotropik yang membutuhkan karbon dan nitrogen dalam bentuk komponen organik. Sumber karbon yang umumnya siap digunakan adalah dalam bentuk monosakarida, antara lain glukosa, fruktosa, dan mannosa, yang ditambahkan pada media pertumbuhan dengan konsentrasi 1-10 %. Beberapa khamir juga dapat menggunakan disakarida seperti sukrosa dan maltosa (Kratochvilova, 1990).

C.3. Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen untuk khamir biasanya tersedia dalam bentuk komponen organik, seperti : pepton, ekstrak yeast, dan lain-lain. Garam ammonium (sulfat, fosfat, nitrat) juga dibutuhkan oleh sel khamir, garam ammonium dari asam organik lebih baik daripada garam ammonium dari asam anorganik. Asam amino dapat menjadi sumber karbon dan sumber nitrogen dalam waktu yang bersamaan dan sering digunakan dalam media pertumbuhan dengan perbandingan yang tepat (Kratochvilova, 1990).

C.4. Fosfor

Fosfor adalah salah satu elemen yang penting untuk media pertumbuhan khamir. Abu khamir mengandung sejumlah besar fosfor dalam bentuk P_2O_5 (mencapai 35-65 %). Fosfor dibutuhkan untuk sintesis komponen penting seperti

fosfoprotein, fosfolipid, nukleoprotein, asam nukleat dan lain-lain (Kratochvilova, 1990).

C.5. Magnesium dan Kalsium

Abu khamir mengandung magnesium sebesar 6 %. Nilai ini akan bertambah dengan adanya penambahan magnesium sulfat dalam media pertumbuhan. Ion magnesium merupakan kofaktor dari beberapa enzim yang mengkatalisis proses-proses metabolisme. Kalsium dalam sel khamir bervariasi jumlahnya, rata-rata abu khamir mengandung 2,85 % kalsium. Air yang kaya kalsium biasa digunakan untuk industri fermentasi, yang akan meningkatkan kadar kalsium dalam abu khamir sampai 7,58%. Ion kalsium dalam media pertumbuhan pada pH netral dapat mengurangi tegangan permukaan (Kratochvilova, 1990).

C.6. Elemen-elemen Oligobiogenik

Abu khamir mengandung elemen-elemen oligobiogenik seperti K_2O , CaO , MgO , SiO_2 , SO_3 , Fe_2O_3 , dan Cl . "Trace elemen" yang juga penting adalah Cu , Y , Mo , Co , dan Zn . Penambahan elemen-elemen ini pada jumlah yang tepat dalam media pertumbuhan dapat meningkatkan proliferasi sel khamir, tapi sebaliknya penambahan dalam jumlah yang terlalu banyak dapat menyebabkan keracunan. (Kratochvilova, 1990).

D. *Phaffia rhodozyma*

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

Kingdom : Fungi
Divisi : Eumycota
Subdivisi : Deuteromycotina
Famili : Cryptococcoceae
Genus : Phaffia
Species : *P. rhodozyma*

P. rhodozyma pertama kali diisolasi pada awal tahun 1970 dari pohon yang sedang berganti daun di pegunungan di daerah Jepang dan Alaska. Pada mulanya spesies ini dinamakan sebagai *Rhodozyma montanae*, kemudian para ahli memasukkannya ke dalam genus Phaffia, yang hanya terdiri atas satu spesies, yaitu *P. rhodozyma* (Johnson dan An, 1991). Phaff *et al.* (1978) menggolongkan khamir ini ke dalam golongan fungi imperfecti atau Deuteromycotina, karena tidak ditemukan adanya spora seksual.

Sel vegetatif *P. rhodozyma* terutama berbentuk ellipsoid, reproduksi dilakukan dengan pembentukan tunas dan pembelahan sel, membentuk pseudomiselium yang rudimenter, dan membentuk klamidospora. Khamir ini mempunyai kemampuan fermentasi, dan dapat membentuk komponen seperti tepung. Koloninya berwarna merah oranye yang disebabkan terutama oleh pigmen karotenoid astaxanthin, dan sedikit β karoten (Phaff *et al.*, 1978). Menurut Barnett *et al.* (1984), sel *P. rhodozyma* dapat lisis dengan adanya enzim endo-1,3- β -Glukonase dan exo-1,4- α -D-Glukosidase. Komponen sel *P. rhodozyma* adalah glukosa, mannosa, glukosamin, dan xilosa.

Menurut Andrewes *et al.* (1976) *P. rhodozyma* berbeda dari khamir-khamir penghasil pigmen lainnya dalam hal kemampuannya untuk memproduksi pigmen karotenoid astaxanthin (3,3'-dihidroksi- β,β -karoten-4,4'-dione). Khamir ini dapat menggunakan bermacam-macam sumber karbon yang mengandung heksosa, pentosa dan disakarida (Vazquez *et al.*, 1998), tapi tidak dapat menggunakan laktosa dan galaktosa. Menurut Johnson dan An (1991) khamir ini dapat menggunakan sumber nitrogen berupa urea, tapi tidak dapat menggunakan nitrat.

E. Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen berwarna kuning sampai merah, biasanya berkaitan dengan klorofil pada tumbuhan hijau. Pigmen ini juga ditemukan pada alga, jamur dan lumut. Selain itu, juga sering ditemukan pada lemak hewan. *P. rhodozyma* salah satu jenis mikroorganisme yang dapat mensintesis karotenoid. Karotenoid utama yang dihasilkan oleh *P. rhodozyma* adalah astaxanthin (3,3'-dihidroksi- β -karoten-4,4'-dione) (Andrewes *et al.*, 1976). Dalam sektor akuakultur ada empat macam molekul karotenoid yang sering digunakan, yaitu β -karoten, cantaxanthin, astaxanthin, dan astasena. Akhir-akhir ini sektor akuakultur lebih sering menggunakan astaxanthin (An *et al.*, 1989).

Astaxanthin merupakan senyawa oksikarotenoid dengan berat molekul 596,86 gram/mol dan rumus kimia $C_{40}H_{52}O_4$. Pigmen ini sangat penting bagi sektor akuakultur, karena hewan-hewan air tidak dapat mensintesis pigmen karotenoid sendiri. Astaxanthin adalah pigmen intraselular di dalam *P. rhodozyma*

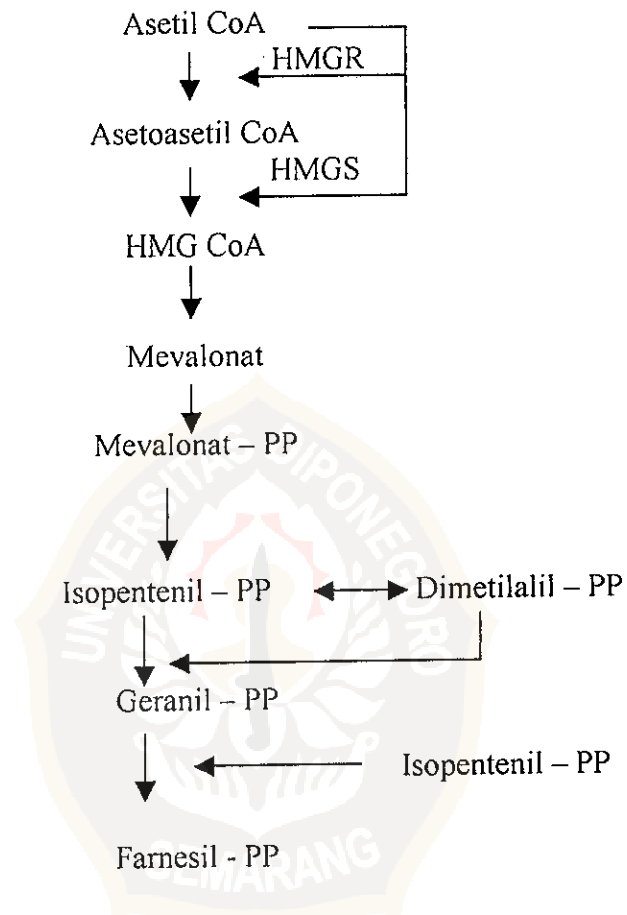
dan merupakan metabolit sekunder. Astaxanthin diproduksi terutama selama fase eksponensial dan pada saat kekurangan nutrisi (Johnson dan Lewis, 1979).

Menurut Johnson dan An (1991), produksi karotenoid pada *P. rhodozyma* dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti : nutrisi yang cukup, aerasi, suhu, pH media, dan cahaya. Penelitian mengenai pengaruh sumber nutrisi terhadap produksi pigmen pada *P. rhodozyma* telah banyak dilakukan dan hasilnya telah dipublikasikan (Johnson dan Lewis, 1979).

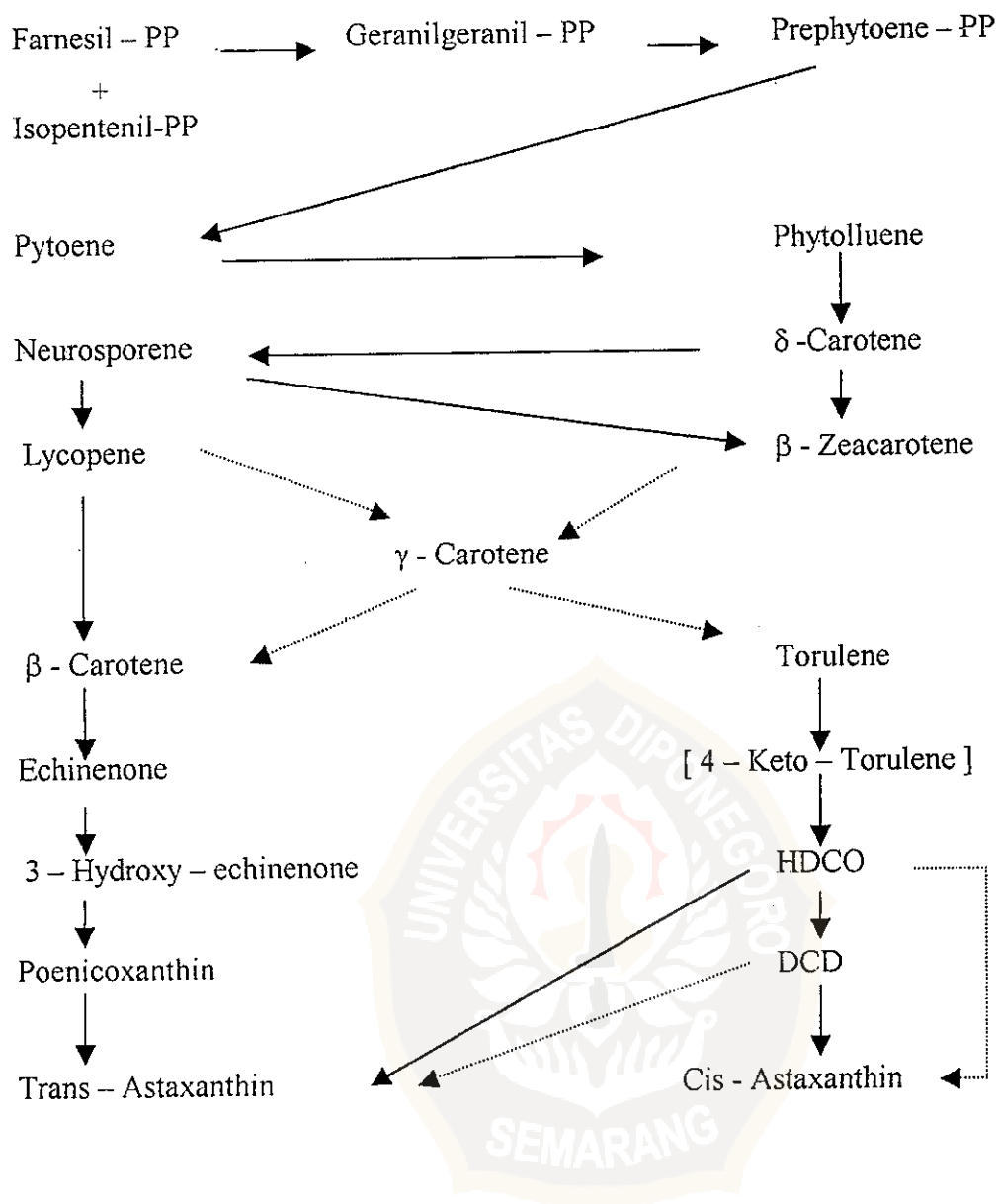
P. rhodozyma dapat tumbuh dengan optimal pada kisaran pH 4-5 (termasuk dalam kelompok acidofil). Suhu untuk pertumbuhannya dapat mencapai 27°C. Suhu optimal untuk pertumbuhan dan untuk memproduksi pigmen adalah 22°C. Beberapa penelitian tentang pertumbuhan dan produksi pigmen oleh *P. rhodozyma* menggunakan galur mutan tidak berhasil pada suhu di atas 30°C. Selain suhu dan pH, cahaya juga sangat penting perannya dalam proses sintesis karotenoid oleh berbagai mikroorganisme. Pada beberapa jamur, pencahayaan bersama-sama dengan oksigen merupakan suatu inducer yang baik dalam proses karotenogenesis. Pertumbuhan dan produksi pigmen pada *P. rhodozyma* dapat terhambat oleh cahaya kuat, tapi sebaliknya dapat diinduksi oleh cahaya lemah seperti cahaya biru (Johnson dan An, 1991).

Sintesis karotenoid pada *P. rhodozyma* diawali dengan adanya senyawa asetil CoA. Melalui jalur mevalonat senyawa ini akan membentuk senyawa farnesil-PP. Proses ini terjadi dengan bantuan enzim hidrosimetil glutarat-CoA sintase (HMGS) dan hidrosimetil glutarat-CoA reduktase (HMGR). Setelah mengalami proses siklisasi, dekarboksilasi, dan fosforilasi oksidatif, senyawa

farnesil-PP akan membentuk senyawa astaxanthin (Johnson dan An, 1991). Tahap pembentukan farnesil-PP terlihat pada gambar 01. Biosintesis astaxanthin pada *P. rhodozyma* terdiri atas 2 jalur, terlihat pada Gambar 02.



Gambar 01. Pembentukan Farnesil-PP melalui jalur Mevalonat



Gambar 02. Biosintesis Astaxanthin pada *P. rhodozyma*

F. Proses Agitasi

Proses agitasi bertujuan untuk mensuplai oksigen dalam media pertumbuhan yang berupa cairan serta untuk menghomogenkan nutrisi (Solomon *et al.*, 1986). Agitasi atau penggojogan medium merupakan proses mekanik yang sering dilakukan pada proses fermentasi dan kultur jaringan. Kecepatan agitasi

yang biasa digunakan dalam proses fermentasi adalah berkisar 100 – 250 rpm (Okagbue *et al.*,1984; Calo *et al.*,1995; Fontana *et al.*,1996; Yamane *et al.*,1997; Johnson *et al.*,1997). Alat yang biasa digunakan untuk proses agitasi pada skala kecil biasanya berupa “shaker”, sedangkan untuk skala yang lebih besar menggunakan fermentor. Proses agitasi ini sangat penting peranannya untuk mensuplai oksigen dalam medium yang berbentuk cairan karena kelarutan oksigen dalam cairan relatif rendah. Pada air yang tidak mengalir difusi air rendah. Konsentrasi oksigen pada cairan akan menjadi lebih rendah karena adanya aktivitas metabolik dari organisme-organisme aerob (Charlile dan Watkinson, 1994)

G. Air Kelapa

Air kelapa merupakan endosperm dalam bentuk cair yang mengandung unsur hara dan zat pengatur tumbuh. Jumlah air yang terdapat dalam setiap buah kelapa rata-rata 300 cc (Suhardiyanto, 1988). Air kelapa mula-mula jernih kemudian lama-lama menjadi keruh. Pada buah kelapa yang sudah tua, airnya sudah berkurang dan mengandung asam karbonat, sedangkan dagingnya mulai menebal. Air kelapa mengandung mineral 4 %, gula rata-rata 2 %, dan abu. Gula yang terdapat di dalam air kelapa adalah glukosa, fruktosa, dan sukrosa. Kandungan gula ini terbanyak dicapai pada saat buah muda (“degan”). Dalam setiap buah kelapa yang belum berdaging (“cengkir”) mengandung 18 gram gula, sedangkan pada buah yang mulai membentuk daging tapi masih muda (“degan”) mengandung 30 gram gula. Pada buah yang sudah tua, kandungan gulanya mulai

menurun, yaitu 8 gram setiap buah (Soedijanto dan Sianipar, 1984). Komposisi zat gizi air kelapa dalam 100 ml dapat dilihat pada Tabel 01.

Tabel 01. Komposisi zat gizi air kelapa dalam 100 ml

Komponen	Kandungan
Kalori (kal)	17,0
Protein (gram)	0,2
Lemak (gram)	0,2
Karbohidrat (gram)	3,8
Kalsium (mg)	15,0
Fosfor (mg)	8,0
Besi (mg)	0,2
Vitamin C (mg)	1,0
Air (gram)	95,5

Sumber : Direktorat Gizi Depkes (1988)

