

PENGERINGAN KEMOREAKSI KULTUR *Saccharomyces cerevisiae* DENGAN CaO SERTA PENGARUH SORPSI KADAR AIR TERHADAP STRES DAN KEMATIAN KULTUR KERING

[Chemoreaction Drying of *Saccharomyces cerevisiae* Culture with CaO
and the Influence of Moisture Sorption Upon Stress and Death of the Dried Culture]

Novelina¹⁾, Soewarno T. Soekarto²⁾, Betty Sri Laksmi Jenie²⁾, Susono Saono³⁾, dan
Maggy T. Suhartono²⁾.

¹⁾ Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian UNAND Padang

²⁾ Program Studi Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB-Bogor

³⁾ Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong

Diterima 28 Oktober 2004 / Disetujui 12 Juli 2005

ABSTRACT

The aim of the research was to study chemoreaction drying of *Saccharomyces cerevisiae* culture and to analyze the influence of moisture sorption on pattern of viability, stress and mortality of the dried starter culture.

The cell culture of *S. cerevisiae* was produced in glucose media with aerobic process in a fermentor at 30°C. The cell obtained was dried in a using chemoreaction process. Drying was conducted by coating with various thickness of coating and various ratio of CaO and calcium oxide ratio used in drying. Dry culture of *S. cerevisiae* and protective agent of CMC and jelly were added to the dry culture. The mixture then was stored at in decicators at R H 11 up to 97% until water equilibrium was achieved. Later the patterns of stress from each sample of dry culture at various conditions of moisture was analyzed.

The result of the research showed that the best drying method was using coat thickness of 1.3 mm and calcium oxide 10 times the weight of dried sample. The condition of dry culture at low minimal water from 5% were mostly in dormant state, the highest viability was at the rate of moisture of 5% - 8%, but a lot portion of the cells were inactive, and at the moisture higher than 8%, dead cells were observed. Addition 2% jelly of 2% CMC did not protect cells from stress.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, chemoreaction drying, moisture sorption, dry stresses

PENDAHULUAN

Saccharomyces cerevisiae adalah salah satu jenis kamir yang cukup banyak digunakan sebagai inokulum dalam berbagai proses industri antara lain dalam produksi roti, tape, cake, minuman beralkohol, dan industri etanol. *Saccharomyces cerevisiae* juga digunakan untuk menghasilkan produk-produk seperti biomassa, ekstrak kamir, autolisat, komponen flavor, protein sel tunggal dan sebagainya. Untuk mendukung pertumbuhan industri-industri tersebut kultur starter yang digunakan biasanya adalah dalam bentuk kering agar memudahkan cara penanganan dan penyimpanan. Disamping itu juga memungkinkan fermentasi lebih terkontrol dan kualitas produk yang dihasilkan lebih terjamin.

Selama ini metode yang digunakan dalam pengeringan kultur secara komersial untuk produksi ragi roti adalah menggunakan metode fluidized-bed, yaitu menggunakan udara dengan suhu 100-150 °C dalam waktu 2-4 jam. Sedangkan penggunaan suhu rendah

seperti pengeringan beku dan vakum lebih banyak digunakan untuk pengawetan kultur mikroba di laboratorium.

Salah satu metoda pengeringan dingin yang cukup potensial dan biaya rendah tetapi belum diaplikasikan untuk pengeringan kultur, adalah metoda pengeringan kemoreaksi. Pengeringan kemoreaksi dengan kapur api (CaO) disamping biayanya rendah, metodenya sangat sederhana dan mudah untuk produksi di Indonesia. Kapur api di Indonesia berlimpah dan selama ini energinya dibuang percuma.

Mekanisme pengeringan kemoreaksi adalah terjadinya reaksi antara CaO dengan uap air dari bahan basah, sehingga kapur menjadi panas. Panas yang dihasilkan menyebabkan udara disekeliling bahan menjadi kering sehingga penguapan air dari bahan akan lebih cepat dan selama itu pula reaksi antara CaO dan uap air terus terjadi, hingga bahan basah menjadi kering, pada saat ini terjadi kesetimbangan kadar air bahan dengan RH (kelembaban relatif) ruang pengering (Soekarto, 2000).

Perubahan kondisi kadar air kultur selama pengeringan dapat menyebabkan mikroba mengalami stres dan akhirnya mati. Jumlah mikroba yang mati selama pengeringan ditentukan dari perbandingan terhadap jumlah mikroba awal. Sedangkan jumlah mikroba stres ditentukan dari perbandingan jumlah mikroba pada medium pertumbuhan khusus, salah satunya adalah medium yang mengandung kadar garam tinggi. (Hurst et al., 1984).

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan kultur kering *Sacharomyces cerevisiae* yang mempunyai viabilitas tinggi dan mengetahui pengaruh kadar air terhadap viabilitas, stres dan kematian kultur starter kering yang dihasilkan.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Dalam penelitian ini digunakan kultur murni *Saccaromyces cerevisiae* (NRLLY-2034. BCC. F. 0074), yang diperoleh dari Laboratorium Kultur Balai Penelitian Veteriner Bogor. Untuk produksi sel digunakan media yang terdiri dari glukosa, ekstrak khamir (Difco, USA), polypepton (Shin-Nihon Seiyaku, Tokyo); KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck), dan antifoam (Adecanol LG-294, Asahi Denka, Tokyo). NaOH dan H_2SO_4 untuk mengatur pH. Disamping itu juga digunakan PDA (Difco), PDB (Difco), dan aquades. Sebagai bahan pengering digunakan kapur api (CaO) yang baru keluar dari pembakaran. Hasil analisis Julianti (2003) kapur api yang baru keluar dari pembakaran tidak mengandung air.

Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik, otoklaf, inkubator, fermentor, sentrifus, lemari pengering, beberapa desikator yang telah diatur kelembabannya (RH) dengan berbagai larutan garam jenuh, higrometer, mikroskop cahaya, colony counter, oven dan seperangkat alat-alat gelas.

Metode penelitian

Produksi sel kultur *S. cerevisiae*

Mula-mula kultur murni *S. cerevisiae* pada agar miring PDA semi padat dipindahkan sebanyak 2-3 ose kedalam masing-masing erlemeyer yang berisi 100 ml medium PDB. Selanjutnya di biakkan pada inkubator goyang pada suhu 30°C selama 24 jam.

Produksi sel dilakukan didalam fermentor tipe Biostat V dengan total volume 15 L. alat ini dilengkapi impeller untuk mengatur kecepatan aerasi, pengatur PH pengatur bahan antifoam. Proses produksi dilakukan pada suhu 28°C , pH sekitar 5 dan kecepatan aerasi 350 rpm. Selama proses produksi diamati peningkatan jumlah sel di

dalam medium setiap jam sampai diperoleh jumlah maksimal.

Massa sel yang diperoleh dipisahkan dari medium dengan sentrifugasi pada 3500 rpm selama 20 menit, kemudian dicuci dengan buffer fosfat lalu dikeringkan dengan metode pengeringan kemoreaksi menggunakan CaO.

Pengeringan kemoreaksi dengan CaO

Penelitian ini terdiri dari dua tahap percobaan pengeringan yaitu perlakuan ketebalan pengeringan dan rasio kapur yang digunakan dengan tujuan untuk mendapatkan kultur kering dengan viabilitas yang tinggi dengan waktu pengeringan yang singkat. Ketebalan bahan dalam pengeringan adalah 1.3 mm; 2.6 mm; dan 3.9 mm, kemudian bahan dimasukkan ke dalam lemari pengering yang telah diisi dengan CaO dalam jumlah berlebih agar dicapai kadar air akhir yang rendah dalam waktu singkat. Konstruksi lemari pengering dirancang sedemikian rupa sehingga kedap terhadap udara dari luar dan tidak dipengaruhi oleh suhu lingkungan.

Tahap berikutnya adalah beberapa perbandingan penggunaan CaO terhadap bahan yang akan dikeringkan, yaitu 5 : 1; 10 : 1; 15 : 1; 20 : 1 dan 25 : 1 (w/w). Pengamatan yang dilakukan juga terhadap kadar air dan viabilitas kultur yang dihasilkan .

Pengaruh kadar air kesetimbangan terhadap viabilitas

Kultur murni yang telah dikeringkan (dari tahap 2) dan mempunyai kadar air 4.6% (bk), dimasukkan kedalam desikator yang telah diatur RHnya dari 11.2 % hingga 97 %, dengan larutan garam jenuh. Kemudian setelah 15 hari didalam desikator (suhu 28°C), terjadi kesetimbangan antara kadar air kultur kering dengan RH desikator. Selanjutnya diukur kadar air dari masing-masing contoh tersebut dengan metoda oven (menggunakan suhu 80°C , selama 24 jam), yang merupakan kadar air kesetimbangan dari kultur kering. Setelah diketahui kadar air kesetimbangan, lalu di amati viabilitas kultur kering pada masing-masing kadar air tersebut dengan metoda standar plate count.

Pengaruh kadar air terhadap stres dan kematian kultur kering

Penentuan viabilitas, stres dan kematian mikroba dilakukan terhadap kultur kering dengan beberapa tingkat kadar air (dari penelitian tahap 3) ditumbuhkan pada medium PDA dan PDA+7.5% NaCl, lalu dihitung jumlah koloni. Jumlah koloni pada PDA adalah total seluruh sel khamir (stres dan sehat), dan yang tumbuh pada PDA+7.5% NaCl adalah sel yang sehat. Sebagai kontrol adalah kultur kering pada kadar air 4.6%.

Pola stres mikroba dapat digambarkan dalam suatu kurva hubungan antara log jumlah koloni pada media PDA dan media PDA +7.5% NaCl terhadap kadar air kultur yang setimbang dengan RH desikator.

Pengaruh bahan pelindung terhadap stres kultur *S. cerevisiae*

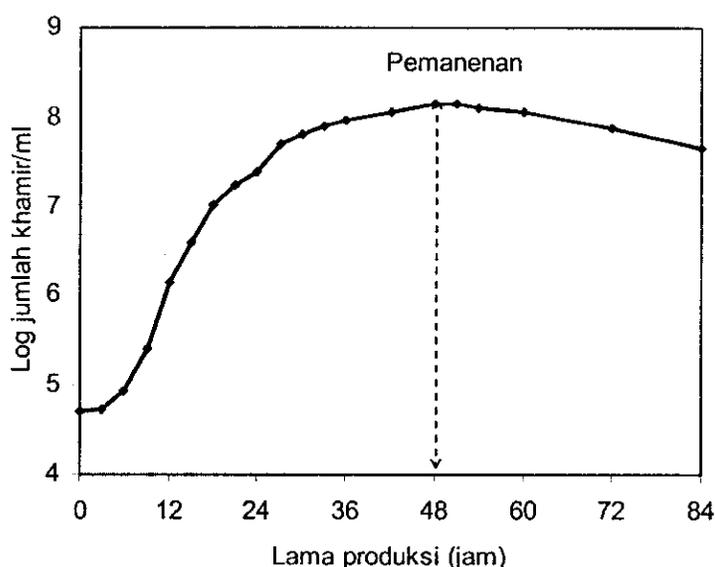
Pemberian bahan pelindung bertujuan untuk melindungi kultur kering dari pengaruh lingkungan seperti kelembaban, sehingga peningkatan kadar air dapat dikurangi dan jumlah mikroba yang stres dan mati juga dapat lebih sedikit. Kultur murni yang telah dikeringkan (seperti tahap 2) dan mempunyai kadar air 4.6% (bk), dicampur dengan bahan pelindung CMC dan agar-agar (keduanya berbentuk tepung), masing-masing 2% dari berat contoh. Sampel dimasukkan kedalam desikator yang telah diatur RHnya dari 11.2 % hingga 97 %, pada suhu 28^o C. Setelah 15 hari didalam desikator, terjadi kesetimbangan antara kadar air kultur kering dengan RH desikator. Kemudian diukur kadar air dari masing-masing contoh tersebut dengan metoda oven (menggunakan suhu 80^o C, selama 24 jam), yang merupakan kadar air kesetimbangan dari kultur kering. Setelah diketahui masing-masing kadar air, lalu ditentukan viabilitas, jumlah stres dan mikroba yang mati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva pertumbuhan dan pemanenan *Saccharomyces cerevisiae*

Dari kurva pertumbuhan pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa produksi sel khamir meningkat dengan tajam dalam waktu 36 jam, setelah itu peningkatan agak lambat, produksi tertinggi adalah dalam waktu 48 jam. Setelah itu jumlah sel cenderung stabil atau sedikit menurun pada jam berikutnya.

Kultur dipanen pada umur pertumbuhan 48 jam. Kemudian disentrifugasi dan dihasilkan sebesar 21 g endapan sel per L media produksi dengan kadar air 76 % - 80 % (basis basah), dengan populasi mencapai 1.41 x 10⁸ per ml. Menurut Priest dan Campbell (1996), konsentrasi khamir yang dihasilkan dalam suatu proses fermentasi dapat mencapai 1.5 x 10⁸ sel per ml dengan viabilitas lebih dari 98 %, dan waktu propagasi 24 - 48 jam. Demikian pula Wick (1968), selama fermentasi wine oleh *S. cerevisiae* terjadi peningkatan jumlah sel dalam waktu 40 - 50 jam, setelah itu jumlah sel cenderung stabil.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Pengeringan kemoreaksi dengan CaO

Ketebalan lapisan pada Pengeringan kemoreaksi

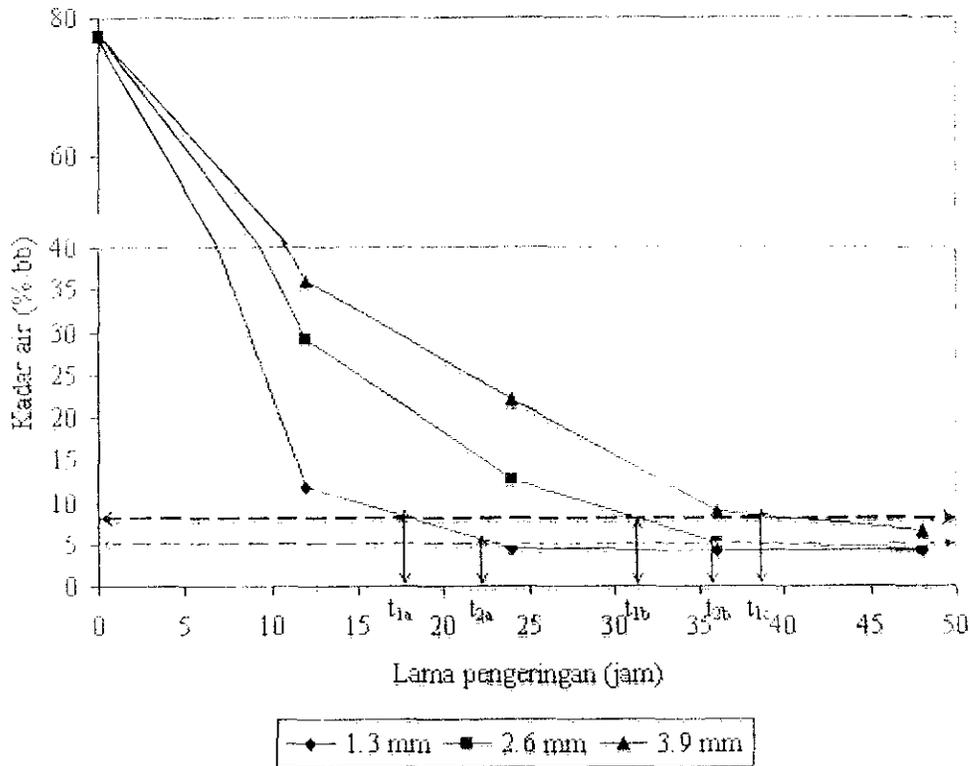
Percobaan ini bertujuan untuk mengkaji hubungan ketebalan dan lama pengeringan. Hasil pengamatan terhadap kadar air kultur khamir selama pengeringan kemoreaksi, diketahui bahwa proses penurunan kadar air berlangsung sangat cepat pada awal pengeringan dan selanjutnya penurunan makin lambat dan menuju kadar air tetap.

Batasan kadar air akhir yang dicapai dalam proses pengeringan secara komersial dengan metode *flourized-bed* untuk produksi khamir kering aktif (*active dry yeast*) adalah rata-rata 8 %. Sedangkan untuk produksi khamir kering aktif instan (*instant active dry yeast*) adalah rata-rata 5 % (The Winemaking Home Page 2004). Berdasarkan hal tersebut lama pengeringan di dalam

penelitian ini, dilakukan hingga tercapai kadar air 8 %; 5 % dan kadar air konstan. Kurva penurunan kadar air selama proses pengeringan kemoreaksi pada berbagai ketebalan lapisan dapat dilihat pada Gambar 2.

Dari Gambar 2 dapat ditentukan lama pengeringan berdasarkan kriteria kadar air yang diinginkan. Prakiraan lama pengeringan berdasarkan kriteria kadar air yang diinginkan disajikan pada Tabel 1. Hasil prakiraan ini dapat digunakan untuk menetapkan lama proses pengeringan selanjutnya. Dalam penelitian ini sampel dengan ketebalan lapisan 1.3 mm mencapai kadar air kurang dari 4.42 % (bk), dengan lama pengeringan 24 jam.

Pengaruh penurunan kadar air terhadap viabilitas kultur starter khamir kering yang dihasilkan pada beberapa ketebalan lapisan dan lama pengeringan 48 jam dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Kurva penurunan kadar air selama proses pengeringan kemoreaksi pada berbagai ketebalan lapisan

Tabel 1. Lama pengeringan kemoreaksi terhadap kultur *Saccharomyces cerevisiae* untuk kriteria kadar air 8 % dan 5%

Tebal lapisan (mm)	Lama pengeringan (jam)		
	Kadar air 8 % (t ₁)	Kadar air 5 % (t ₂)	Kadar air konstan
1.3 (a)	17 (t _{1a})	22 (t _{2a})	24
2.6 (b)	31 (t _{1b})	36 (t _{2b})	40
3.9 (c)	38 (t _{1c})	> 48	> 48

Tabel 2. Pengaruh tebal lapisan pengeringan terhadap kadar air akhir setelah pengeringan 48 jam dan viabilitas kultur kering yang dihasilkan

Tebal lapisan (mm)	Kadar air akhir		Total koloni per gr	Viabilitas (%)
	(% b b)	(% b k)		
1.3	4.23	4.42	1.59x10 ⁹	71
2.6	4.51	4.72	1.23x10 ⁹	55
3.9	6.64	7.11	0.78x10 ⁹	35
			2.25x10 ⁹ ¹⁾	100

¹⁾Kontrol (kultur sebelum dikeringkan dengan kadar air awal 77.56 % b b)

Hasil pengamatan pada Tabel 2 menunjukkan kadar air khamir kering yang dihasilkan setelah 48 jam hampir sama untuk ketebalan lapisan 1.3 mm dan 2.6 mm, sedangkan ketebalan lapisan 3.9 mm, kadar airnya lebih tinggi. Hal ini disebabkan sampel mempunyai kadar air awal yang sangat tinggi, sehingga untuk lapisan yang lebih tebal diperlukan waktu pengeringan yang lebih lama, tetapi mengingat sampel adalah berupa sel hidup, maka waktu pengeringan yang lebih lama akan menurunkan viabilitasnya.

Hasil pengamatan total viabilitas masing-masing kultur kering cukup tinggi. Hal ini disebabkan karena energi panas yang dihasilkan dari reaksi uap air dengan CaO di dalam ruang pengering tidak berpengaruh ke bahan yang dikeringkan, tetapi hanya menyebabkan udara di dalam ruangan menjadi kering, sehingga uap air dari bahan akan dilepas. Reaksi uap air dengan CaO terus berlangsung hingga air dalam bahan tidak menguap lagi, pada saat ini RH ruang pengering telah setimbang dengan

kadar air bahan. Keseimbangan ini dapat tercapai dalam waktu yang relatif singkat, demikian pula suhu udara di dalam ruang pengering selama terjadinya proses pengeringan adalah sekitar 27 °C – 28 °C, sedangkan suhu kapur api berkisar antara 30 °C – 35 °C. Suhu optimum untuk pertumbuhan khamir adalah pada 25 °C– 30 °C (Pelczar et al., 1977), dengan demikian dapat dikatakan bahwa proses pengeringan kemoreaksi tidak berpengaruh terhadap viabilitas kultur kering yang dihasilkan.

Penggunaan CaO dalam pengeringan

Pada percobaan ini tebal lapisan sampel yang dipakai adalah 1.3 mm, karena waktu pengeringannya lebih cepat, viabilitas kultur kering yang dihasilkan tinggi, dan lama pengeringan dapat dilakukan dalam waktu 24 jam. Hasil pengeringan kemoreaksi dengan beberapa rasio penggunaan CaO terhadap kadar air dan viabilitas kultur kering yang dihasilkan setelah pengeringan 24 jam dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh rasio pemakaian CaO terhadap kadar air akhir, populasi dan viabilitas kultur kering yang dihasilkan dengan lama pengeringan 24 jam.

Rasio CaO dan kultur	Kadar air akhir		Total mikroba/gr	Viabilitas (%)
	(% b b)	(% b k)		
• 5 : 1 (R5)	12.06	13.72	0.94 x10 ⁹	54
• 10 : 1 (R10)	4.41	4.61	1.05 x10 ⁹	60
• 15 : 1 (R15)	4.23	4.42	1.07 x10 ⁹	61
• 20 : 1 (R20)	4.30	4.49	1.26 x10 ⁹	72
• 25 : 1 (R25)	4.26	4.45	1.22 x10 ⁹	70
			1.75x10 ⁹ ¹⁾	

¹⁾Kontrol (kultur sebelum dikeringkan dengan kadar air awal 80 % basis basah)

Hasil pengamatan pada Tabel 3, terlihat kadar air akhir dari kultur kering yang dihasilkan hampir sama pada setiap perlakuan (kecuali R5). Hal ini berarti penurunan kadar air dalam proses pengeringan kemoreaksi, tidak saja dipengaruhi oleh jumlah CaO, tetapi juga oleh kadar air awal dari produk yang dikeringkan. Seperti diketahui produk yang dikeringkan adalah bahan yang sama dan kadar air awal juga sama. Kultur khamir yang dikeringkan mempunyai kadar air awal yang sangat tinggi, sehingga pada awal proses pengeringan jumlah air yang tersedia cukup banyak untuk dapat bereaksi dengan CaO. Setelah terjadi reaksi CaO dengan uap air dari kultur yang dikeringkan, maka akan terbentuk Ca(OH)₂ yang berbentuk serbuk putih, dan akan menutupi bagian dari kapur api yang masih reaktif, sehingga akan berpengaruh terhadap proses pengeringan. Pada periode pengeringan selanjutnya uap air yang tersedia akan semakin kecil, sehingga pengaruh penutupan ini lebih kecil pada jumlah kapur yang optimal dari pada jumlah kapur yang lebih besar.

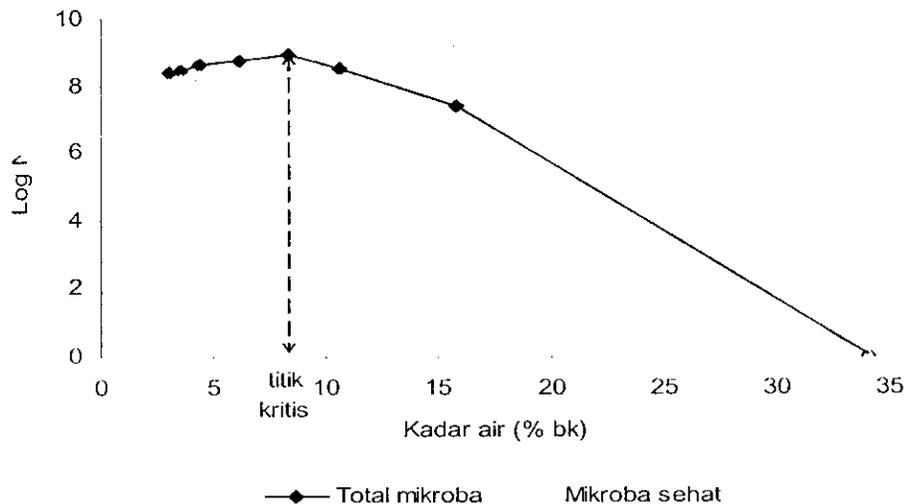
Menurut Julianti (2003) dari hasil penentuan sorpsi isotermi terhadap Ca(OH)₂ diketahui bahwa pengikatan air oleh Ca(OH)₂ baru terjadi pada RH diatas 70% dengan kapasitas pengikatan yang sangat kecil. Oleh karena itu Ca(OH)₂ tidak dapat digunakan sebagai absorben dalam proses pengeringan, sehingga jika CaO

yang masih tersisa pada kapur api ditutupi oleh Ca(OH)₂, maka proses absorpsi air oleh CaO akan terhambat. Dengan demikian jumlah kapur api yang berlebihan tidak berpengaruh banyak terhadap penurunan kadar air. Oleh sebab itu kapur api digunakan dalam jumlah yang optimal dan tidak berlebih. Dari hasil penelitian ini rasio 10 : 1 (R10) sudah dapat digunakan untuk pengeringan kultur khamir karena kadar air kultur kering yang dihasilkan cukup rendah dan jumlah mikroba yang hidup cukup tinggi.

Hasil pengamatan total pertumbuhan ternyata kultur kering yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan cukup tinggi pertumbuhannya, dan masing-masing perlakuan, total pertumbuhan tidak banyak perbedaannya sehingga khamir kering yang dihasilkan dapat digunakan sebagai kultur starter untuk menghasilkan produk-produk fermentasi. Pertumbuhan kultur kering yang cukup tinggi, disebabkan oleh proses pengeringan kemoreaksi terjadi pada suhu kamar sehingga viabilitasnya tetap terjaga.

Pengaruh kadar air kesetimbangan terhadap viabilitas

Penurunan kadar air selama pengeringan dapat mempengaruhi viabilitas dari kultur kering yang dihasilkan. Demikian pula selama penyimpanan kultur kering dapat terjadi peningkatan kadar air karena pengaruh RH lingkungan sehingga berdampak pada viabilitas kultur kering. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh kadar air terhadap viabilitas (log N) khamir kering *S. cerevisiae* pada media PDA dan PDA + 7.5 % NaCl

Gambar 3 menunjukkan pada kadar air yang lebih rendah dari 8% kurva viabilitas sedikit lebih rendah. Viabilitas maksimal adalah pada kadar air sekitar 8% (setara dengan a_w bahan 0.57), peningkatan viabilitas masih dalam siklus log yang sama (jumlah koloni sekitar 10^8). Pada kadar air lebih dari 8% sampai kadar air 15% terjadi penurunan viabilitas sel 1 siklus log atau jumlah koloni menjadi 10^7 dan mikroba yang sehat menurun 2 siklus log. Selanjutnya pada kadar air lebih dari 15% viabilitas menurun dengan tajam. Hal ini disebabkan pada kadar air yang rendah, kondisi a_w kultur juga sangat rendah sehingga dinding sel menjadi kering. Pada kondisi ini semua proses metabolisme dan respirasi berhenti dan kemungkinan kultur berada dalam keadaan dorman. Kultur kering yang dorman bila ditumbuhkan pada media tumbuhnya tidak dapat langsung beradaptasi seperti kultur yang tidak dorman, jadi memerlukan perlakuan khusus supaya dapat tumbuh.

Menurut The Winemaking Home Page (2004) kultur khamir kering untuk pembuatan roti sebelum digunakan harus di rehidrasi dulu didalam air panas 40-45 °C selama 10 menit, untuk mengaktifkan kultur kering yang dorman. Demikian juga (2004) pembuatan khamir kering sampai kadar air dibawah 8%, dapat membuat khamir dalam keadaan dorman. Butir halus khamir kering pada kondisi dorman ini akan menjadi aktif bila diberi suatu cairan hangat.

Umumnya mikroorganisme untuk dapat tumbuh haruslah kontak dengan air, karena sel hidup memperoleh semua atau sebagian kebutuhan nutrien secara langsung berupa larutan. Demikian pula untuk aktivitas metabolisme dan reaksi-reaksi kimia haruslah tersedia air sebagai katalisator. Status ketersediaan air atau potensial air yang tidak menguntungkan dapat menyebabkan terjadinya stres pada mikroba, karena terbatasnya nutrient yang diperlukan dan terhambatnya aktivitas metabolisme (Brown 1990).

Hubungan kadar air terhadap stres dan kematian *S. cerevisiae*

Menurut Teixeira et al., (1995) sel mikroba yang berada pada kondisi stres menunjukkan telah terjadi kerusakan membran sitoplasma. Hal ini diketahui dengan peningkatan sensitivitas terhadap NaCl, peningkatan aktivitas β galaktosidase dan kebocoran isi sel pada fase stasioner. Berdasarkan hal tersebut salah satu cara untuk mengetahui mikroba yang stres adalah dengan menghitung koloni mikroba yang tumbuh pada medium yang mengandung NaCl 7.5%. rumusnya adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ sel stres} = \frac{T - U}{T} \times 100 \%$$

$$\% \text{ sel mati} = \frac{I - T}{I} \times 100 \%$$

T = Σ koloni pada PDA

U = Σ koloni pada PDA+7.5% NaCl

I = Σ koloni kontrol pada PDA

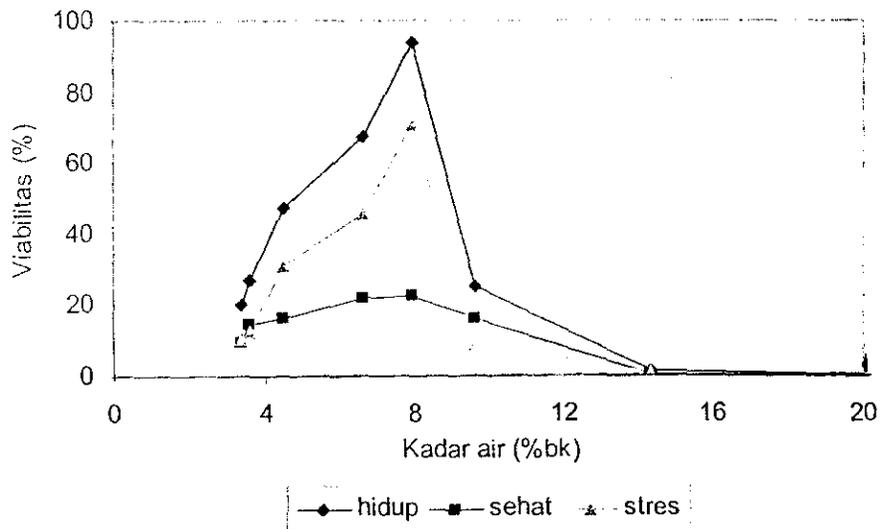
(kontrol adalah kultur kering pada kadar air 4.42%)

Pengaruh kadar air terhadap stres

Peningkatan kadar air kesetimbangan kultur kering terhadap stres dapat dilihat pada Gambar 4, pada kondisi kadar air kesetimbangan sangat rendah, jumlah sel kering yang tumbuh sekitar 20 %. Pada kondisi ini, air didalam sel kering merupakan air terikat yang sangat kuat dalam sistem seluler dan tidak dapat berperan untuk aktivitas metabolisme, sehingga semua reaksi kimia dan biokimia dalam sel terhenti dan akibatnya respirasi juga berhenti. Dalam kondisi ini juga terlihat persentase sel yang tidak tumbuh sekitar 80 %, karena sel dalam keadaan dorman.

Selanjutnya peningkatan kadar air dari khamir kering menyebabkan meningkatnya pertumbuhan, maksimal pertumbuhan adalah pada kadar air 8 % yaitu sekitar 93.78%, sedangkan pada kadar air yang lebih tinggi kurva sel kering yang hidup akan menurun karena jumlah kematian sel meningkat. Bila dilihat dari kurva stres, sebagian besar dari kultur kering yang hidup adalah dalam kondisi stres. Jumlah mikroba yang stres adalah sekitar 73%, sedangkan yang sehat (tidak stres) adalah sekitar 20%. Mikroba stres ini bila ditumbuhkan pada medium yang diperkaya nutrisi yang sesuai, maka mikroba akan sehat dan tumbuh seperti mikroba normal kembali.

Pengaruh stres kering pada kultur *Saccharomyces cerevisiae* berbeda dengan stres kering *Staphylococcus aureus* pada sampel makanan. Berdasarkan hasil penelitian Soekarto (1978) pada makanan dengan $a_w = 0.11$, mikroba yang stres adalah 6 % dan meningkatnya a_w makanan (= 0.33) persentase mikroba stres meningkat menjadi 76%. Selanjutnya terus meningkat dan maksimal pada $a_w = 0.76$ yaitu 99%, tetapi kemudian menurun tajam, pada $a_w = 0.85$ rasio antara yang stres dan tidak stres mendekati 0. Dari total koloni yang terhitung juga terjadi penurunan dengan meningkatnya a_w sampel makanan hingga 0.76, setelah itu peningkatan a_w hingga 0.85, jumlah koloni juga meningkat tajam dan mencapai pertumbuhan maksimal. Dalam hal ini nutrisi pada sampel makanan dapat mensuplai kebutuhan nutrisi bagi *Staphylococcus aureus*. Dengan meningkatnya a_w makanan nutrisinya lebih mudah dimanfaatkan mikroba untuk tumbuh, sebaliknya pada a_w yang rendah nutrisinya tidak dapat dimanfaatkan sehingga terjadi stres pada mikroba.

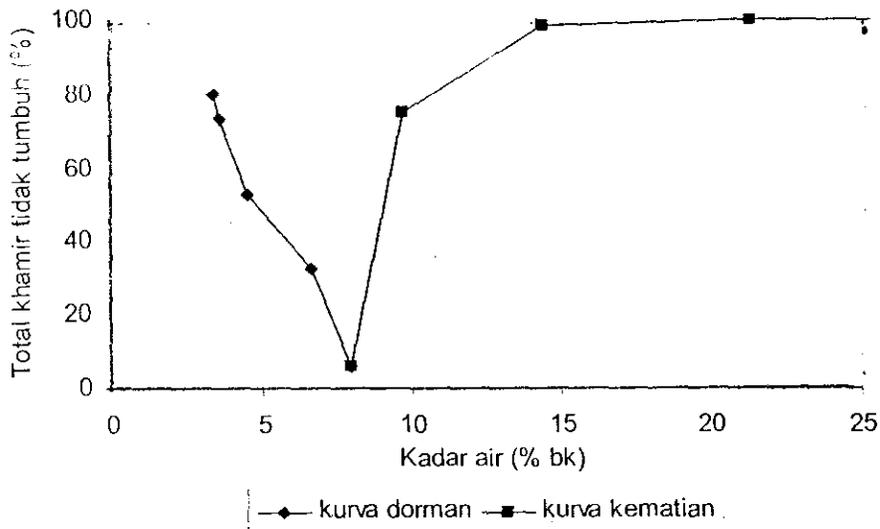


Gambar 4. Pola stres kultur kering *S. cerevisiae* pada berbagai kadar air kesetimbangan kultur kering

Pengaruh kadar air terhadap kematian

Meningkatnya kadar air keseimbangan dari kultur kering dapat menggantikan sebagian air yang hilang sewaktu proses pengeringan kultur. Air dapat mengaktifkan enzim-enzim, proses metabolisme dan respirasi, sehingga terjadi perombakan nutrisi yang ada pada sel. Setelah nutrisi habis, air tidak dapat mensuplainya karena air tidak mengandung nutrisi, akibatnya sel tidak dapat melanjutkan aktivitas metabolismenya dan akhirnya sel akan mati. Kurva kematian kultur kering akibat peningkatan kadar air dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 5 menunjukkan pada kadar air dibawah 8% khamir tidak tumbuh adalah karena dorman, sedangkan pada kadar air diatas 8% khamir mulai mati dan pada kadar air diatas 20% kematian mencapai 100%. Hal ini merupakan akibat dari kondisi stres pada sel terus berlanjut tanpa adanya suplai nutrisi, sehingga peningkatan kadar air menyebabkan aktifnya enzim zimoliase yang dapat merusak struktur sel. Sel mikroba yang rusak apabila tidak segera disembulkan pada medium yang kaya nutrisi, maka mikroba akan mati.



Gambar 5. Pengaruh peningkatan kadar air terhadap kematian kultur kering *Saccharomyces cerevisiae*

Menurut Hohmann (2002) proses pengeringan kultur mikroba menyebabkan hilangnya air dari sampel yang dikeringkan sehingga konsentrasi biomolekul dan ion-ion didalam sel meningkat. Hal ini menyebabkan aktivitas selular berhenti dan pada saat ini sel menderita stres. Diluar batas aktivitas selular tersebut khamir mempunyai kemampuan untuk beradaptasi pada kondisi kering, seperti dalam pembuatan khamir kering aktif, dimana kadar airnya kurang dari 10%. Dalam kondisi ini pada sel khamir terdapat senyawa yang berperan khusus untuk melindungi struktur sel sehingga sel khamir dapat survival. Senyawa tersebut adalah gliserol dan trehalose, dengan asumsi gliserol sebagian besar melindungi multi-enzim kompleks. Sedangkan trehalose adalah plasmalemma yang

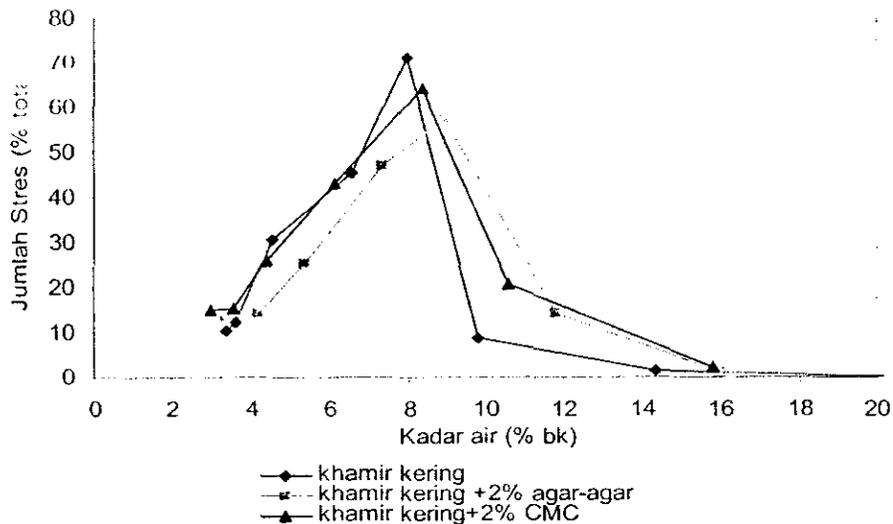
berfungsi mengatur komposisi ion intraselular. Ketidak seimbangan komposisi ion intraselular dalam waktu yang cukup lama dapat menyebabkan kematian.

Pengaruh bahan pelindung terhadap stres kultur *S. cerevisiae*

Pemberian bahan pelindung diharapkan dapat mengurangi stres kultur kering dalam penyimpanan, hasil pengamatan pengaruh bahan pelindung terhadap pertumbuhan kultur *S. cerevisiae* dapat dilihat pada Tabel 4 dan pengaruh bahan pelindung terhadap stres kultur *S. cerevisiae* terlihat pada Gambar 6.

Tabel 4. Hasil pengamatan pertumbuhan kultur kering *Saccharomyces cerevisiae* dengan bahan pelindung agar-agar dan CMC pada berbagai nilai a_w

Kultur kering			Kultur kering + 2% Agar			Kultur kering + 2% CMC		
Kadar air %b.k	PDA	PDA+7.5% NaCl	Kadar air %b.k	PDA	PDA + NaCl	Kadar air %b.k	PDA	PDA+7.5% NaCl
3.39	1.95E+08	9.35E+07	3.40	2.12E+08	1.01E+08	3.01	2.41E+08	1.13E+08
3.6	2.58E+08	1.39E+08	4.22	2.43E+08	1.25E+08	3.57	2.81E+08	1.48E+08
4.52	4.55E+08	1.60E+08	5.34	3.90E+08	1.79E+08	4.41	4.10E+08	1.86E+08
6.59	7.00E+08	2.13E+08	7.32	5.50E+08	2.11E+08	6.14	5.70E+08	2.01E+08
7.98	9.05E+08	2.20E+08	8.94	7.10E+08	2.31E+08	8.34	8.10E+08	2.57E+08
9.79	2.43E+08	1.57E+08	11.79	2.17E+08	9.80E+07	10.57	3.30E+08	1.52E+08
14.36	1.61E+07	1.88E+06	15.98	1.22E+07	1.92E+06	15.8	2.32E+07	2.01E+06
21.27	2.90E+05	1.82E+05	23.45	2.20E+05	6.20E+04	27.75	1.40E+06	8.90E+05
33.18	0.00E+00	0.00E+00	35.02	0.00E+00	0.00E+00	34.09	0.00E+00	0.00E+00



Gambar 5. Pengaruh bahan pelindung terhadap stres pada berbagai kadar air kesetimbangan dari kultur murni khamir kering

yeast.htm (Last update was February 17th, 2004).

Teixeira P, Castro H, Kirby R. 1995. Spray drying as a method for preparing concentrated cultures of *Lactobacillus bulgaricus*. J. Appl. Bacteriol. 78: 456-462

Van den Berg, C. dan S. Bruin. 1981. Water activity and its estimation in food system: theoretical aspects. Di dalam Water activity : Influences in Food Quality. Rockland, L.B. dan Steward, G.F. (ed). Academic Press. London.