

 plantaxia



Signifikansi Khamir Dalam Pangan



Maria Erna Kustyawati

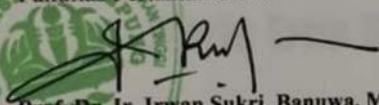
LEMBAR PENGESAHAN

Judul Buku : Signifikansi Khamir Dalam Pangan
Penulis : **Maria Erna Kustyawati**
NIP : 196211291987032010
Instansi : Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Publikasi : Buku Referensi
Penerbit : Plantaxia, www.plantaxia.com
No ISBN : 978-602-6912-41-1,
E-ISBN: 978-602-6912-42-8

Bandar Lampung, Agustus 2017

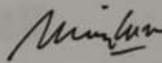
Mengetahui:

Dekan
Fakultas Pertanian Unila



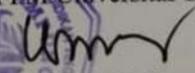
Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 196110201986031002

Penulis,



Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.
NIP 196211291987032010

Mengetahui:
Ketua LPPM Universitas Lampung



Warsono, Ph.D
NIP 196302161987031003

DOKUMENTASI LEMBARA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT UNIVERSITAS LAMPUNG	
TGL	25-8-2017
NOMOR	0054/B/B/M/PP/2017
JENIS	Buku
PAGES	81

Signifikansi Khamir Dalam Pangan

Maria Erna Kustyawati

 plantaxia

Signifikansi Khamir Dalam Pangan

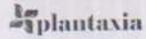
Maria Erna Kustyawati

 **plantaxia**

Signifikansi Khamir dalam Pangan

oleh Maria Erna Kustyawati

Hak Cipta © 2016 pada penulis



Ruko Jambusari 7A Yogyakarta 55283
Telp: 0274-889398; 0274-882262; Fax: 0274-889057;
E-mail: info@plantaxia.com; Web: www.plantaxia.com

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, secara elektronik maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

Tajuk Entri Utama: Kustyawati, Maria Erna
Signifikansi Khamir dalam Pangan/Maria Erna Kustyawati
- Edisi Pertama. Cet. Ke-1. - Yogyakarta: Plantaxia, 2016
xii + 88 hlm.; 25 cm

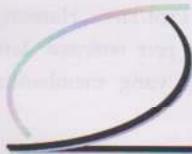
Bibliografi.: 83 - 88
ISBN : 978-602-6912-41-1
E-ISBN : 978-602-6912-42-8

1. Mikroorganisme - Fungsi

I. Judul

579.5

Semua informasi tentang buku ini, silahkan scan QR Code di cover belakang buku ini



KATA PENGANTAR

Tersedianya buku ilmiah dengan bahasa yang mudah dimengerti oleh berbagai pihak merupakan salah satu faktor penting dalam meningkatkan mutu pendidikan di perguruan tinggi. Buku dengan judul "*Signifikansi Khamir dalam Pangan*" diangkat ke permukaan atas dasar pentingnya informasi pengetahuan tentang hal tersebut dan adanya keterbatasan ketersediaan pustaka. Buku ini merupakan kumpulan materi dari berbagai sumber meliputi buku teks, buku referensi, dan hasil-hasil penelitian dan dirangkum oleh penulis yang berkecimpung dalam bidang mikrobiologi pangan dan industri. Tujuan utama penulisan buku ini untuk menyumbangkan sedikit karya dalam menambah khasanah pustaka di Indonesia. Penulis berharap agar buku ini dimanfaatkan sejauh mungkin bagi siapa saja yang berminat mendalami bidang ilmu ini untuk dapat diamalkan bagi kepentingan kemanusiaan dalam arti luas.

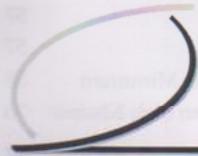
Dalam penyajiannya, penulis menyadari adanya keterbatasan dalam kemampuan, sehingga kritik dan saran dari para pembaca untuk meningkatkan mutu buku ini sangat diharapkan.

1	1
2	2
3	3
4	4
5	5
6	6
7	7
8	8
9	9
10	10
11	11
12	12
13	13
14	14
15	15
16	16
17	17
18	18
19	19
20	20
21	21
22	22
23	23
24	24
25	25
26	26
27	27
28	28
29	29
30	30
31	31
32	32
33	33
34	34
35	35
36	36
37	37
38	38
39	39
40	40
41	41
42	42
43	43
44	44
45	45
46	46
47	47
48	48
49	49
50	50
51	51
52	52
53	53
54	54
55	55
56	56
57	57
58	58
59	59
60	60
61	61
62	62
63	63
64	64
65	65
66	66
67	67
68	68
69	69
70	70
71	71
72	72
73	73
74	74
75	75
76	76
77	77
78	78
79	79
80	80
81	81
82	82
83	83
84	84
85	85
86	86
87	87
88	88
89	89
90	90
91	91
92	92
93	93
94	94
95	95
96	96
97	97
98	98
99	99
100	100

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Prof.Tirza Hanum, PhD., dan Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., PhD., sebagai *peer reviewed* dan Fakultas Pertanian serta LPPM Universitas Lampung yang membantu pendanaan melalui hibah penulisan buku.

Bandar Lampung, September 2016

Maria Erna Kustyawati



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TAKSONOMI DAN IDENTIFIKASI	3
2.1 Pendahuluan	3
2.2 Taksonomi	4
2.3 Isolasi dan Enumerasi Khamir	13
2.4 Identifikasi Khamir	17
BAB 3 REPRODUKSI DAN PERTUMBUHAN	21
3.1 Pendahuluan	21
3.2 Reproduksi Khamir	21
3.4 Faktor-faktor Pertumbuhan	31
BAB 4 KHAMIR DALAM PANGAN	39
4.1 Pendahuluan	39
4.2 Sejarah Penggunaan Khamir dalam Pangan	40
4.3 Khamir dalam Produk Pangan	42
4.4 Aktivitas Khamir dalam Bahan Pangan	52

BAB 5 PEMBUSUKAN PANGAN OLEH KHAMIR 57
5.1 Pendahuluan 57
5.2 Pembusukan pada Produk Makanan dan Minuman 58
5.3 Kontrol Terhadap Pembusukan Makanan oleh Khamir 76

DAFTAR PUSTAKA 83

-oo0oo-

KATA PENGANTAR
DAFTAR ISI
DAFTAR GAMBAR
DAFTAR TABEL

BAB 1 PENDAHULUAN
BAB 2 TAKSONOMI DAN IDENTIFIKASI
2.1 Pendahuluan
2.2 Taksonomi
2.3 Isolasi dan Identifikasi Khamir
2.4 Identifikasi Khamir

BAB 3 REPRODUKSI DAN PERTUMBUHAN
3.1 Pendahuluan
3.2 Reproduksi Khamir
3.4 Faktor-faktor Pertumbuhan

BAB 4 KHAMIR DALAM PANGAN
4.1 Pendahuluan
4.2 Spora/Spore Khamir dalam Pangan
4.3 Khamir dalam Produk Pangan
4.4 Aktivitas Khamir dalam Pangan



DAFTAR GAMBAR

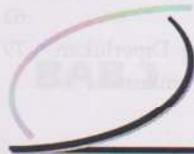
Gambar 2.1	Diagram Sebuah Sel Khamir (*Mengandung Membran Lemak)	5
Gambar 2.2	Perbedaan Struktur Sel Khamir dan Sel Bakteri	6
Gambar 2.3	Berbagai Bentuk Askuspora	6
Gambar 2.4	Morfologi Sel Beberapa Spesies Khamir	8
Gambar 3.1	Beberapa Sistem Reproduksi Aseksual Khamir	22
Gambar 3.2	Proses Pertunasan atau <i>Budding</i>	23
Gambar 3.3	Reproduksi Aseksual dengan Pertunasan	24
Gambar 3.4	Pembelahan Sel Secara Fisi pada Siklus Hidup <i>Schizosaccharomyces pombe</i> .	25
Gambar 3.5	Pembentukan Tunas dan Pembentukan Spora (Sporulasi) pada <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	26
Gambar 3.6	Siklus Reproduksi Sexual pada Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	28
Gambar 3.7	Pertumbuhan Sel Khamir <i>S. cerevisiae</i> Selama Waktu Tertentu	28
Gambar 4.1	Metabolism Lemak, Karbohidrat dan Protein Melalui Siklus Krebs Sebagai Penghasil Energi	53

Gambar 5.1 Reaksi Dekarboksilasi Pembentukan Senyawa Kadaverin dan Putresin oleh Mikroflora Pembusuk dalam Daging

-oo0oo-

DAFTAR GAMBAR

2	Gambar 2.1 Diagram Selulosa Sel Khamir (Mengandung Membran Lemak)	61
3	Gambar 2.2 Perbedaan Struktur Sel Khamir dan Sel Bakteri	
4	Gambar 2.3 Berbagai Bentuk Askospora	
5	Gambar 2.4 Morfologi Sel Bekaspora Spores Khamir	
11	Gambar 3.1 Bekaspora Sistem Reproduksi Askospora Khamir	
17	Gambar 3.2 Proses Fermentasi atau budding	
24	Gambar 3.3 Reproduksi Askospora dengan Fermentasi	
25	Gambar 3.4 Fermentasi Sel Secara Total pada Siklus Hidup <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
26	Gambar 3.5 Fermentasi Total dan Fermentasi Spora (sporulasi) pada <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
28	Gambar 3.6 Siklus Reproduksi Sexual pada Khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
28	Gambar 3.7 Fermentasi Sel Khamir <i>S. cerevisiae</i> Selama Waktu Torment	
33	Gambar 4.1 Metabolisme Lemak, Karbohidrat dan Protein Melalui Siklus Krebs Sebagai Energi	



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Kunci Karakteristik untuk Identifikasi dan Klasifikasi Khamir	15
Tabel 2.2	Medium Wiskerham dan Medium Sporulasi	17
Tabel 3.1	Temperatur Pertumbuhan Minimum, Optimum, dan Maksimum Khamir dalam Makanan dan Minuman	32
Tabel 3.2	pH Minimum, Optimum, Maksimum Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan Minuman	34
Table 3.3	Nilai a_w Minimum Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan Minuman	35
Tabel 3.4	Konsentrasi NaCl dan Sukrosa Maksimum untuk Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan Minuman	36
Tabel 3.5	Produksi Berbagai Alkohol oleh Khamir	36
Tabel 3.4	Konsentrasi Minimum Asam Bensoat dan Asam Sorbat yang Diperlukan untuk Menghambat Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan minuman pada pH 5,0-5,5.	37
Tabel 4.1	Khamir yang Terdapat dalam Produk Susu	45
Tabel 4.2	Khamir yang Terdapat dalam Produk Daging	51
Tabel 4.3.	Enzim Ekstraseluler Hidrolitik Khamir	53
Tabel 5.1	Khamir Pembusuk Produk Daging	60

Tabel 5.2 Khamir Pembusuk Produk Susu 63
 Tabel 5.3 Konsentrasi Minimum Bahan Pengawet yang Diperlukan untuk Menghambat Pertumbuhan Khamir Pembusuk 79

DAFTAR TABEL

-0000-

Tabel 1.1 Cara Khas untuk Identifikasi dan Klasifikasi Khamir 12
 Tabel 2.2 Media Wiskman dan Media Sporulasi 13
 Tabel 3.1 Temperatur Optimum Minimum, Optimum dan Maksimum Khamir dalam Makanan dan Minuman 22
 Tabel 3.2 pH Minimum Optimum, Maksimum Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan Minuman 23
 Tabel 3.3 Nilai a_w Minimum Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan Minuman 24
 Tabel 3.4 Konsentrasi NaCl dan Gula Maksimum untuk Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan Minuman 26
 Tabel 3.5 Produk Botol Alkohol oleh Khamir 26
 Tabel 3.6 Konsentrasi Minimum Asam Benzoat dan Asam Sorbat yang Diperlukan untuk Menghambat Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan minuman pada pH 5.0-5.5 27
 Tabel 4.1 Khamir yang Tersepat dalam Produk Susu 42
 Tabel 4.2 Khamir yang Tersepat dalam Produk Daging 43
 Tabel 4.3 Rantai Ekstensi dari Hidrolik Khamir 43
 Tabel 5.1 Khamir Pembusuk Produk Daging 60

BAB 1

PENDAHULUAN

Khamir adalah fungi uniseluler yang tumbuh dan berkembang biak dengan membentuk pertunasan (*budding*), kadang-kadang dapat juga mengadakan pembelahan (*fisi*). Khamir pertama kali diamati oleh Antonie van Leeuwenhoek pada tahun 1680, tetapi pada masa itu belum diketahui sebagai makhluk hidup. Selama tahun 1860an Louis Pasteur mempelajari pembuatan bir dan wine dan pada kesimpulannya membuktikan bahwa khamir adalah makhluk hidup yang selama pertumbuhannya dapat mengubah gula menjadi etanol. Khamir sering terdapat dalam makanan dan minuman. Aktivitas pertumbuhan dan metabolismenya dalam makanan dan minuman dapat menyebabkan kerusakan atau menguntungkan dalam hal kualitas produk, tergantung pada jenis makanan maupun minuman dan jenis spesies yang dapat tumbuh di dalamnya. Khamir sangat terkenal karena peranannya dalam fermentasi minuman beralkohol dan pembuatan roti (Spencer dan Spencer, 1990; Reed dan Nagodhawithana, 1991; Rose dan Harrison, 1993). Di sisi lain, pertumbuhan khamir juga menyebabkan pembusukan makanan yang ditandai dengan perubahan flavor, bau, tekstur, dan penampakan. Kerusakan makanan yang disebabkan oleh khamir secara ekonomis sangat merugikan, walaupun demikian kejadian ini tidak sesering pembusukan yang disebabkan oleh bakteri dan fungi lain. Dalam buku ini akan diulas mengenai pertumbuhan dan faktor-faktor pertumbuhan khamir;

taksonomi, ekologi, isolasi, identifikasi dan enumerasi; sejarah penggunaan khamir dalam pangan; keberadaan khamir dalam pangan; aktivitas khamir dalam pengolahan pangan; *Saccharomyces cerevisiae* dan fungsinya dalam pangan; khamir pembusuk makanan dan minuman; serta kontrol terhadap khamir penyebab pembusukan makanan dan minuman. Pengertian dan pemahaman mahasiswa tentang keberadaan khamir, sifat pertumbuhannya, faktor pertumbuhan, komponen bahan pangan yang dirombak oleh khamir, pembusukan yang disebabkan, dan cara mengatasi pembusukan, serta isolasi dan identifikasi khamir diharapkan akan diperoleh setelah membaca dan memahami pembahasan dalam buku ini.

-0000-

BAB 2

TAKSONOMI DAN IDENTIFIKASI

2.1 Pendahuluan

Untuk mempelajari pertumbuhan khamir, perlu kita ketahui lebih dahulu di mana letak khamir dalam taksonomi. Penggolongan atau klasifikasi khamir ke dalam genus dan spesies dilakukan berdasarkan pada ciri-ciri morfologi, biokimia, fisiologi dan sifat-sifat molekuler. Khamir adalah mikroorganisme yang diklasifikasikan ke dalam fungi. Khamir berbeda morfologinya dari kapang (*mold*) karena sel khamir berbentuk uniseluler sedang mold berbentuk multiseluler (Lodder, 1970). Akan tetapi perbedaan ini tidak mutlak karena ada beberapa spesies khamir yang mempunyai miselium. Khamir berkembang biak secara vegetatif dengan membentuk tunas (*budding*). Dalam aplikasinya di bidang mikrobiologi pangan, kemampuan dalam mengidentifikasi *Saccharomyces cerevisiae* sampai level genus dan spesies sangat diperlukan. Selain itu pengetahuan mengenai isolasi serta identifikasi khamir sangat penting dimiliki oleh mahasiswa yang menempuh kuliah mikrobiologi pengolahan pangan. Oleh karena itu dalam Bab ini akan dibahas mengenai klasifikasi khamir dalam taksonomi, tahap-tahap dasar isolasi dan identifikasi khamir.

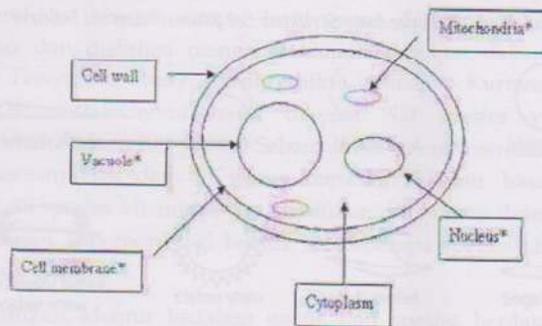
Setelah mempelajari Bab ini mahasiswa mengetahui dimana letak khamir dalam taksonomi dan cara melakukan isolasi dan identifikasi khamir dari bahan pangan sampai pada taraf genus dan atau spesies.

2.2 Taksonomi

Khamir pertama kali diamati oleh Antonie van Leeuwenhoek pada tahun 1680, tetapi pada masa itu belum diketahui sebagai makhluk hidup. Selama tahun 1860 an Louis Pasteur mempelajari pembuatan bir dan wine dan pada kesimpulannya membuktikan bahwa khamir adalah makhluk hidup yang selama pertumbuhannya dapat mengubah gula menjadi etanol. Khamir adalah fungi uniseluler yang tumbuh dan berkembang biak dengan membentuk pertunasan (*budding*), kadang-kadang dapat juga mengadakan pembelahan (*fisi*). Khamir termasuk organisme yang eukariotik seperti jamur dan mempunyai struktur sel yang terdiri dari: (1) kapsul yang tersusun dari polisakarida tetapi hanya beberapa khamir yang memiliki kapsul ini, (2) dinding sel khamir yang muda relative tipis dan yang tua relatif tebal. Pada khamir dinding selnya tersusun oleh glukukan (30-34%) yang terdiri dari unid-unid D-glukosa dan mannan (30%) yang terdiri dari unid D-mannosa. Protein selalu terdapat pada dinding sel, (3) Membran sitoplasmik yang terdiri dari lipid, protein, dan polisakarida. Khamir tidak banyak mengabsorpsi komponen nitrogen organik, asam amino dan dipeptida atau tri peptida, tetapi mampu mengekskresika sejumlah besar prekursor flavor aktif ke dalam substrat, (4) Rotoplasmik yaitu khamir tertentu mengandung sitoplasma dalam bentuk organel dan mengandung reticulum endoplasma, (5) Nucleus yaitu organ yang dikelilingi oleh membrane semi permeable yang berfungsi untuk metabolisme dan reproduksi, (6) Mitokondria yang berdiameter antara 0.3-1 μ m dan panjang 3 μ m, (7) Vakuola, setiap sel yeast mempunyai satu atau lebih vakuola. Diagram sel khamir disajikan pada Gambar 1. Khamir sangat mudah dibedakan dengan mikroorganisme yang lain misalnya bakteri, karena sel khamir mempunyai ukuran sel yang lebih besar dan morfologinya berbeda (Gambar 2). Sel khamir eukariotik, uniseluler, rata-rata berdiameter 5-8 μ m dan ada beberapa sel yang lebih besar. Sel khamir

yang lebih tua cenderung berukuran lebih kecil. Berbeda dengan protozoa karena khamir mempunyai dinding sel yang lebih kuat, dan berbeda dengan ganggang atau algae karena khamir tidak melakukan fotosintesis. Khamir memproduksi berbagai warna meliputi krem, merah muda, dan merah, membentuk ascospora dan arthospora yang tahan panas. Arthospora dihasilkan oleh jenis khamir yang menyerupai kapang/yeast-like fungi. Sel bakteri adalah prokariotik uniseluler, berukuran rata-rata 0,1-2,0 μm , dan tidak mempunyai membrane inti, tetapi mempunyai dinding sel yang nyata.

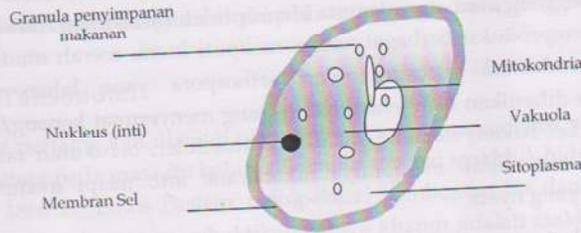
Sporulasi merupakan kriteria yang sangat penting dalam menyusun taksonomi khamir secara klasik (konvensional). Spora dapat memiliki ciri bentuk yang spesifik dan morfologi permukaan. Kedua sifat ini sangat diperlukan dalam melakukan identifikasi khamir. Askus dari *Saccharomyces cerevisiae* biasanya mengandung 1-4 ascospora yang berbentuk bundar sampai lonjong dan mempunyai permukaan halus. Berbagai bentuk askuspora dapat dilihat pada Gambar 3. *Pichia membranifaciens* memproduksi askus 1-4 berbentuk topi, sedang *Debaryomyces hansenii* umumnya memproduksi sebuah askus dengan satu spora berbentuk sperik dengan permukaan kasar (*warty*).



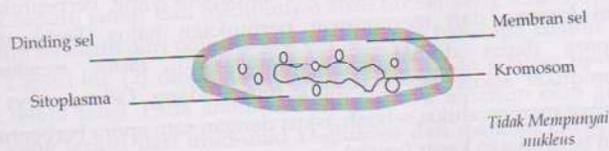
Sumber Gambar: Kurtzman dan Fell, 1998

Gambar 2.1 Diagram Sebuah Sel Khamir (*Mengandung Membran Lemak)

Sel khamir

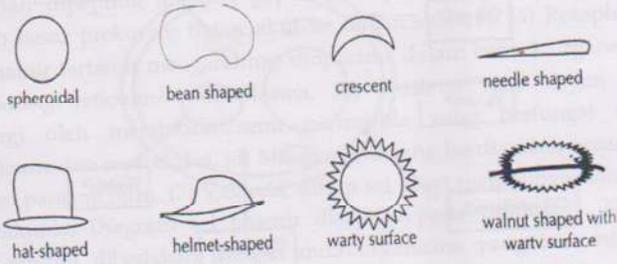


Sel Bakteri



Sumber Gambar: Kurtzman dan Fell, 1998

Gambar 2.2 Perbedaan Struktur Sel Khamir dan sel Bakteri



Sumber Gambar: Fleet dan Praphailong, 2005

Gambar 2.3 Berbagai Bentuk Askuspora

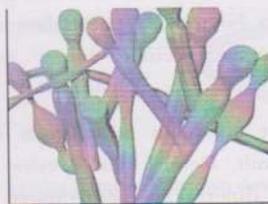
Sporulasi khamir biasanya diinduksi dengan menumbuhkan khamir dalam media kaya nutrisi atau sebaliknya media dengan nutrisi terbatas (misalnya agar jus sayuran, agar asetat, malt extrac agar, oatmeal agar). Pembentukan spora selanjutnya diamati menggunakan mikroskop dalam jangka waktu 1-2 minggu. Perlu diperhatikan bahwa spora sebagai reproduksi seksual pada khamir ini berbeda dengan endospora yang dibentuk oleh bakteri. Endospora bakteri diketahui sangat resisten terhadap lingkungan ekstrem (misalnya panas), tetapi resistensi askospora dan basidiospora yeast terhadap panas sangat rendah.

Fungi diklasifikasikan kedalam 4 kelompok berdasarkan pada tipe reproduksi seksualnya dan pembentukan spora. Keempat tersebut adalah Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes, dan Deuteromycetes (fungi imperfect), dan termasuk dalam kelas Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota, dan Crytridiomycota. Deuteromycetes mewakili golongan fungi yang fase seksual reproduksinya belum diketahui dengan jelas. Khamir ditemukan di semua golongan kecuali dalam golongan Zygomycetes.

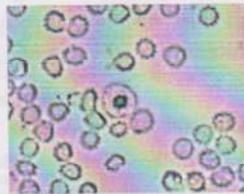
Organisme yang terdapat dalam golongan selanjutnya di subklasifikasikan dalam Kelas, Ordo, Famili, Genus, dan spesies. Dalam praktek mikrobiologi pangan sangat diperlukan kemampuan dalam mengidentifikasi khamir sampai level genus dan spesies. Secara detil identifikasi dan diskripsi mengenai khamir terdapat dalam buku *The Yeasts, a Taxonomic Study, fourth edition* edited by Kurtzman dan Fell (1998). Dalam taksonomi baru, dikenal 700 spesies yeasts yang dikelompokkan dalam 100 genus. Sebanyak 60 genus mewakili golongan khamir ascomycetes dan 40 genus mewakili khamir basidiomycetes. Sebanyak 50 spesies khamir secara signifikan ditemukan dalam makanan dan minuman. Ciri morfologi bentuk sel beberapa spesies khamir dapat dilihat pada Gambar 4.

Klasifikasi khamir kedalam genus dan spesies berdasarkan pada ciri-ciri morfologi, biokimia, fisiologi dan sifat-sifat molekuler. Metode terbaru dalam klasifikasi khamir secara molekuler menggunakan 5S-rDNA, komposisi Basa DNA, dan profil koenzym-Q (Jay *et al.*, 2005). Baru-baru

ini sekuensing susunan basa ribosomal DNA suatu khamir dapat dilakukan secara rutin. Sekuensing ini sangat bervariasi untuk dapat membedakan genus dan spesies, khususnya sekuensing domain D2 dari subunit 26S ribosomal DNA. Susunan domain D2 semua spesies khamir telah dilaporkan dan dapat ditemukan dalam database (Kurtzman dan Robnett, 1998; Fell *et al.*, 2000). Homologi terhadap sekuensing dapat dianalisis dan dapat digunakan untuk menentukan hubungan kedekatan filogeni suatu spesies dengan spesies yang lain. Berdasarkan pada analisis sekuensing dan data-data molekuler yang lain (komposisi DNA dan DNA/RNA hibridisasi), klasifikasi taksonomi khamir masih mengalami perubahan sampai kini, walaupun perubahan ini lebih cenderung terfokus pada pengelompokan beberapa spesies yang memiliki kesamaan karakteristik dari pada memisahkan spesies tersebut dan membentuk kelompok baru.



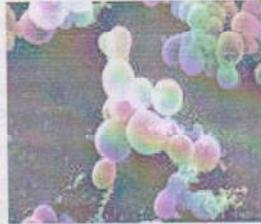
Candida albicans



Trichosporon beigeli



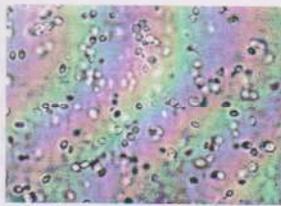
Schizosaccharomyces pombe



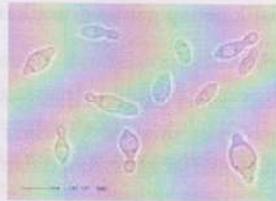
Malassezia furfur

Sumber Gambar: Kallmeyer, 2005

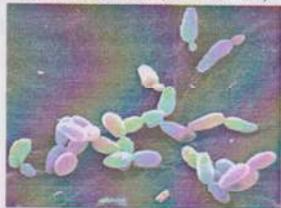
Gambar 2.4 Morfologi Sel Beberapa Spesies Khamir



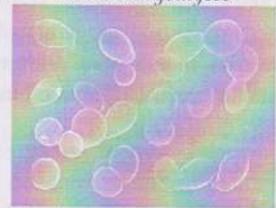
Pichia anomala (Hansenula)



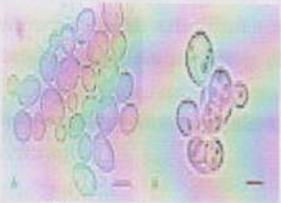
Rod Debaromyces



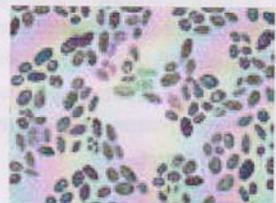
Baker's Yeast - *Saccharomyces cerevisiae*



Wine's yeast - *Saccharomyces cerevisiae*



Zygosaccharomyces



Kluyveromyces



Yarrowia lipolytica



Cryptococcus flavus

Sumber Gambar: Kallmeyer, 2005

Gambar 2.4 Morfologi Sel Beberapa Spesies Khamir (Lanjutan)

Karakteristik setiap genus diuraikan sebagai berikut:

Genus Candida

Kebanyakan genus *Candida* dari spesies *C. tropicalis* terdapat dalam daging giling segar dan unggas. *Candida* juga terdapat dalam fermentasi biji coklat, dalam starter kefir, dan dalam bier, ale, jus buah.

Genus Cryptococcus

Genus ini ber-reproduksi dengan tunas multilateral, tidak memfermen gula, berwarna merah atau orange, membentuk arthospora, dan sering terdapat dalam tanaman, tanah, buah-buahan strawberi, ikan laut, udang dan daging giling segar.

Genus Debaryomyces

Genus ini dapat membentuk ascospora yang kadang-kadang menghasilkan pseudomiselium dan ber-reproduksi dengan tunas multilateral. Sering terdapat dalam produk susu. Jenis khamir *Debaryomyces hansenii* merupakan foodborne spesies, dapat tumbuh dalam media yang mengandung garam 25%, dan Aw 0.65, membentuk lendir pada proses pembuatan wine, dapat tumbuh dalam larutan garam pada proses pembuatan keju, serta menyebabkan pembusukan pada jus orange konsentrat dan yogurt.

Genus Hanseniaspora

Genus ini merupakan khamir berbentuk apikulata seperti pada spesies *Kloeckera spp*, melangsungkan reproduksi secara budding bipolar sehingga menghasilkan sel berbentuk lemon. Ascus mengandung 1-4 spora berbentuk topi. Genus ini dapat memfermentasi gula, dan sering terdapat dalam tomat, strawberi, jeruk, serta dalam fermentasi biji coklat.

Genus Issatchenkia

Genus ini memproduksi pseudomiselium dan berkembang biak dengan tunas multilateral. Spesies *Candida krusei* adalah teleomorf *Issatchenkia orientalis*, membentuk pelikel dalam media cair, mengandung koenzim Q-7.

Genus Kluyveromyces

Golongan khamir ini membentuk ascospora dan reproduksi dengan tunas multilateral, dengan spora berbentuk sperik. *Kluyveromyces marxianus* terdapat dalam produk susu, menghasilkan β -galaktosidase dan membantu fermentasi gula dan laktosa. *K. marxianus* mengandung koenzim Q-6 dan membantu fermentasi koumis, juga digunakan untuk membantu produksi lactase dari whey, serta sebagai khamir yang digunakan untuk memproduksi sel khamir dari whey. *K. marxianus* juga menyebabkan pembusukan pada keju.

Genus Pichia

Genus ini mempunyai anggota spesies paling banyak dalam taksonomi khamir. Genus ini ber-reproduksi dengan tunas multilateral, aski mengandung 4 spora berbentuk sperik, topi, ataupun bulan sabit, dan kadang-kadang membentuk pseudomiselia dan arthospora. Spora yang berbentuk topi berkembang menjadi spesies *Williopsis spp* yang sekarang dinamakan *Debaryomyces*. *Pichia spp* mempunyai ciri membentuk film dalam media cair dan sekarang sangat penting untuk membuat produk pangan tertentu. Beberapa spesies terdapat dalam ikan segar, udang, serta dalam larutan minyak zaitun dan menyebabkan pembusukan pada piket dan sauerkraut.

Genus Rhodotorula

Genus ini termasuk dalam Basidiomycetes, reproduksi dengan tunas multilateral dan tidak melangsungkan fermentasi. *R. mucilaginosa*, dan *R. glutinis* sering terdapat dalam makanan, memproduksi pigmen pink dan merah, sering memberikan warna pink dan orange pada ikan salmon. Genus ini kebanyakan bersifat psikrotrofik sehingga sering terdapat dalam daging unggas segar, udang, ikan, daging sapi, serta dapat tumbuh dipermukaan mentega.

Genus Saccharomyces

Genus ini membentuk ascospora dan reproduksi dengan tunas multilateral, memproduksi spora dalam asci, yang diploid, tidak melangsungkan

fermentasi laktosa. Spesies *S. bisporus*, dan *S. rouxii* sekarang termasuk dalam genus *Zygosaccharomyces*, sedangkan spesies *S. rosei* sekarang termasuk dalam genus *Torulaspota*. Khamir yang digunakan dalam bakery, winery, dan brewery, serta pembuatan champagne adalah jenis *Saccharomyces cerevisiae*. *S. cerevisiae* sangat jarang menyebabkan pembusukan makanan.

Genus Schizosaccharomyces

Sel khamir membentuk dinding yang membelah sel secara lateral sehingga menghasilkan hifa dan arthrospora. Ascus mengandung 4-8 spora berbentuk biji dan tidak membentuk tunas. *Schizosaccharomyces* merupakan genus yang dianggap berkerabat jauh dengan khamir sebenarnya, karena membentuk hifa. Spesies yang terkenal adalah *Schizosaccharomyces pombe*, bersifat osmofilik dan resisten terhadap bahan pengawet kimia.

Genus Torulaspora

Reproduksi dengan tunas multilateral, menghasilkan spora berbentuk sperik di dalam askus. Spesies dalam genus ini bersifat fermentative terhadap gula, mengandung koenzym Q-6, contohnya *Torulopsis delbrueckii*.

Genus Trichosporon

Termasuk dalam golongan ini adalah khamir bersifat oksidatif tidak membentuk ascuspora, reproduksi dengan tunas multilateral dan arthoconidia. Membentuk miselium, tidak memfermentasi gula, berperan dalam fermentasi biji coklat, serta terdapat dalam udang, daging giling, unggas, daging kambing beku. Contohnya *T. Pullulans* yang memproduksi enzim lipase.

Genus Yarrowia

Genus ini dahulu disebut *Saccharomycopsis*, termasuk dalam ordo *Endomycetales*, sering terdapat dalam buah, sayuran, daging, dan unggas, contohnya *Yarrowia lipolytica*.

Genus *Zygosaccharomyces*

Reproduksi dengan tunas multilateral, menghasilkan spora berbentuk biji (bean shaped), haploid, dan memfermentasi gula. Termasuk dalam genus ini yaitu *Z. Rouxii* yang dapat tumbuh pada Aw0.62, dan berperan dalam fermentasi miso; *Z. Bailii* menyebabkan pembusukan mayonaise dan salad karena dapat tumbuh pada pH 1.8.

2.3 Isolasi dan Enumerasi Khamir

Isolasi, Enumerasi dan Identifikasi khamir dalam makanan meliputi beberapa tahap sebagai berikut: (1) produk makanan dibuat suspensi yang homogen dengan pelarut yang sesuai, (2) pengenceran suspensi, (3) enumerasi populasi sel dalam suspensi yang dapat dilakukan dengan metode most probable number (MPN), agar tuang, filtrasi membrane, mikroskopik maupun elektromikroskopik, (4) pemurnian isolat, (5) identifikasi isolat sampai tingkat genus, spesies atau strain. Kunci identifikasi spesies khamir disajikan pada Tabel 1.

Kultivasi dalam media agar masih merupakan metode pendekatan standard untuk isolasi dan enumerasi khamir. Homogenisasi suspensi dan pengenceran menggunakan air distilat. Larutan garam atau buffer digunakan untuk preparasi sample. Untuk menghindari terjadinya stres pada khamir dan kemungkinan kehilangan viabilitas sel khamir dianjurkan menggunakan larutan air peptone (*peptone water*) 0.1% untuk preparasi sampel (Mian *et al.*, 1997). Produk makanan yang mengandung konsentrasi gula atau garam tinggi, preparasi sampel dianjurkan menambahkan 5-10% sukrosa atau NaCl kedalam pelarut untuk meminimalkan kematian sel oleh karena tekanan osmotik (*osmotic shock*). Kultivasi khamir dalam media agar dapat dilakukan dengan metode tuang (*pour plate*) atau metode tebar (*spread plate*), tetapi metode tebar diketahui menghasilkan data yang lebih akurat dan reliabel. Metode plating dapat digunakan untuk kultivasi khamir bila memenuhi kriteria-kriteria berikut: (1) media mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan semua spesies khamir, (2) harus dapat mendorong pertumbuhan khamir yang mengalami luka, kematian

sublethal, (3) harus dapat menekan pertumbuhan bakteri, (4) menghambat pertumbuhan kapang (*mold*). Malt ekstrak agar (MEA), glucose-yeast extract agar dan trypton-glucose-yeast-extract agar (glukosa 100 gram, yeast extract 5 gram, tryptone 5 gram, agar 15 gram, air 1000 ml) merupakan media untuk pertumbuhan khamir yang baik. Untuk menghambat pertumbuhan bakteri dalam media tersebut dapat dilakukan dengan mengatur nilai pI sampai 3.5 atau dengan menambahkan satu macam atau dua macam antibiotik bakteri ke dalam media sampai konsentrasi akhir 100 mg/l (misalnya oksitetrasiklin, klortetrasiklin, kloramfenikol, streptomisin, gentamisin). Penggunaan media asam dengan pH 3.5 tidak dianjurkan karena mediaum dengan pH rendah kemungkinan dapat menghambat pertumbuhan beberapa spesies khamir, khususnya khamir yang mengalami stress atau kematian sublethal. Apabila suatu produk makanan mengandung khamir dan kapang, penggunaan media tersebut di atas akan menimbulkan masalah yaitu pertumbuhan kapang yang berlebih (*overgrowth*).

Hal ini dapat diatasi dengan menambahkan reagen yaitu Rose Bengal, dichloran, sodium atau potassium propionate, dan diphenyl, ke dalam media untuk menghambat pertumbuhan kapang tanpa mempunyai efek samping terhadap pertumbuhan khamir. Maka dari itu penggunaan media dichloran rose Bengal-chloramphenicol agar (*DRBC agar*) dan dichloran glycerol agar (*DG18*) yang biasanya untuk isolasi kapang, dapat digunakan untuk mengisolasi khamir dalam produk. Kedua media ini tersedia secara komersial. Media ini dapat digunakan untuk menguji keberadaan khamir dan kapang dalam preparasi yang sama. Media agar Selektive Differensial telah diformulasi untuk tujuan isolasi dan enumerasi khamir spesifik yang berasal dari makanan, tetapi pada umumnya media ini tidak tersedia secara komersial. Agar Lysine (tersedia komersial) digunakan untuk isolasi non-*Saccharomyces* spesies bila jenis khamir tersebut berada bersama-sama dengan *Saccharomyces cerevisiae*, karena *S. cerevisiae* tidak bisa menggunakan lisin sebagai sumber nitrogen. Khamir yang toleran terhadap etanol (*ethanol-tolerant yeast*) dapat diisolasi bila terdapat bersamaan dengan khamir yang sensitif terhadap etanol dengan menumbuhkan dalam media yang disuplementasi dengan etanol.

Tabel 1.1 Kunci Karakteristik Untuk Identifikasi dan Klasifikasi Khamir

Sifat morfologi: <ul style="list-style-type: none"> - Tunas (multilateral, bipolar, unipolar) - Fission - Sterigmata formation - Ballistospore production - Pseudohyphae - True hyphae - Ascospora (jumlah, bentuk, bebas) - Basidiospore - Colony color - Diazonium Blue color reaction (membedakan ascomycetes and basidiomycetes) 	Fermentasi terhadap: <ul style="list-style-type: none"> - D-glukosa - Laktosa - D-galaktosa - Cellobiosa - Maltosa - Melezitosa - Sucrosa - Raffinosa - α-α-Trekalosa - Starch - Melibiosa
Assimilasi terhadap: <ul style="list-style-type: none"> - D-galaktosa - D-ribosa - D-xylosa - L-arabinosa - L-rhamnosa - Sucrosa - Maltosa - α, α-Trehalosa - Me α-D-glukosida - Cellobiosa - Salicin - Melibiosa - Laktosa - Raffinosa - Melezitosa - Starch 	<ul style="list-style-type: none"> - 5- keto-D-gluconate - DL-lactate - Succinate - Citrate - Etanol - Nitrate - Urea (hydrolysis) - Nitrite - L-lysine - D-manitol - myo-inositol - D-glukono 1,5-lactone - 2-keto-D-gluconate - Glyserol - Erytritol - Ribitol

Tabel 1.1 Kunci Karakteristik Untuk Identifikasi dan Klasifikasi Khamir
(Lanjutan)

Pertumbuhan dalam atau pada:	Molekuler:
- 0.01% cycloheximide	- Guanine dan Cytosin (Mol %)
- without vitamin	DNA
- 0.1% cycloheximide	- DNA hybridization/reaction
- 10% NaCl %glucosa	%
- 50% D-Glukosa	- Base sequence of ribosomal
- 37°C	RNA/DNA sub unit.
- 60% D-Glukosa	
- 42°C	

Sumber : Fleet, 1992

Spesies khamir *Zygosaccharomyces bailii* yang sangat resisten terhadap bahan pengawet seperti sodium benzoat atau potassium sorbat, dapat ditumbuhkan dalam media yang ditambahkan bahan-bahan pengawet tersebut atau ditambahkan asam asetat (Pitt dan Hocking, 1997). Seorang analis dari Portugis membuat media dasar asam glukosa-format (glucose-formic acid base media) sebagai media spesifik untuk mendeteksi *Zygosaccharomyces bisporus*. Media Khromogenic digunakan untuk mendeteksi perbedaan antara *Kluyveromyces hansanii* dan *Kluyveromyces marxianus*. Dalam media Kromogenik ini *K. hansanii* akan menghasilkan enzim β -glukosidase sedangkan *K. marxianus* akan menghasilkan enzim β -galaktosidase. *Kluyveromyces marxianus* merupakan salah satu dari khamir yang dapat memfermen laktosa dan tumbuh pada suhu 45°C. Karakteristik ini dapat digunakan untuk melakukan seleksi kultur. *Yarrowia lipolytica* yang berkaitan dengan pembusukan keju memproduksi pigmen coklat dari tirosin dalam media yang mengandung tirosin. Media Spesifik dapat diformulasikan untuk tujuan deteksi khamir yang xerotoleran, khamir amilolitik, khamir proteolitik dan khamir pektinolitik. Assay Impedimetric dan ATP-bioluminescence telah dikembangkan untuk tujuan penghitungan populasi khamir, tetapi tidak bias digunakan untuk pengujian rutin (Fleet, 1992; Deak, 1995).

Khamir dapat ditumbuhkan dengan khamir yang sensitif terhadap etanol dengan menumbuhkan dalam media yang disuplementasi dengan etanol.

Untuk pemupukan khamir secara laboratoris sebaiknya suplai oksigen diberikan sebanyak mungkin. Media pemupukan yang baik biasanya sama dengan media pemupukan yang digunakan untuk bakteri yaitu dalam bentuk agar padat maupun agar cair (broth). Medium yang biasa digunakan untuk pemupukan isolat khamir adalah 5% malt extract agar, atau dapat juga menggunakan media Wickerham dengan formulasi seperti pada Tabel 2. Media untuk khamir dapat pula dibuat dari sumber alami seperti ekstrak sayuran atau ekstrak buah-buahan. Medium sporulasi merupakan medium sintetik yang digunakan untuk produksi askuspora jenis khamir penghasil askuspora. Banyak pula media sintetik yang diperlukan khusus untuk produksi ascospora untuk strain khamir tertentu.

Tabel 2.2 *Medium Wickerham dan Medium Sporulasi*

Medium Wickerham		Medium Sporulasi	
Bahan / zat	Konsentrasi	Bahan / zat	Konsentrasi
Ekstrak malt	0.3%	Sodium asetat (anhydrous)	0.5g
Ekstrak yeast	0.3%	KCL	1.0 g
Pepton	0.5%	Agar	1.5 g
Glukosa	1.0%	Air suling	100ml
Agar	2.0%		

Sumber: Rose and Harrison, 1993

2.4 Identifikasi khamir

Khamir diklasifikasikan ke dalam genus dan spesies berdasarkan pada sifat morfologi, fisiologi, biokimia dan genetiknya (DNA). Identifikasi dilakukan dengan mengadakan pengujian terhadap sifat-sifat mikrobiologi, fisiologi, biokimia, dan genetiknya, dan selanjutnya data dianalisis menggunakan kunci identifikasi yang terdapat dalam buku Kurtzman dan Fell (1998), dan Barnett *et al.* (2000). Buku tersebut juga memberikan secara detil mengenai deskripsi material, metode yang diperlukan untuk melakukan uji. Umumnya, untuk mengidentifikasi khamir sampai tingkat spesies diperlukan 50-100 macam uji. Waktu yang diperlukan untuk melakukan uji

sampai memperoleh hasil adalah 1-2 minggu. Analisis dan interpretasi data sebaiknya dilakukan oleh seorang ahli. Walaupun isolasi dan identifikasi khamir sangat penting, tetapi tidak dilakukan secara rutin di laboratorium mikrobiologi pangan.

Dewasa ini metode molekuler telah diterapkan untuk identifikasi khamir dan akan menggantikan metode indentifikasi kultural yang konvensional. Pendekatan molekuler yang sangat akurat adalah sekuensing *D2* domain dari *26S ribosom DNA*. Database sekuen untuk khamir dari golongan askomycetes dan basidiomycetes sudah tersedia. Prosedure dalam metode molekuler meliputi ekstraksi *DNA* dari kultur khamir, amplifikasi domain *D2* dengan *PCR*, pemisahan secara elektroforesis, dan isolasi *DNA* yang telah diamplifikasi, selanjutnya diikuti sekuensing hasil amplifikasi dan pencocokan atau perbandingan dengan data yang ada dalam database. Keseluruhan tahapan dalam prosedur ini memerlukan waktu 24-48 jam. Untuk melakukan metode molekuler diperlukan seorang ahli dan ketersediaan mesin *PCR*, peralatan elektroporesis, dan mesin sekuensing. Metode molekuler diprediksi dapat dilakukan secara rutin di laboratorium mikrobiologi pangan di masa 5-10 tahun mendatang.

Beberapa metode molekuler yang telah dipublikasi untuk tujuan identifikasi dan mapping *DNA* isolat khamir meliputi kariotiping kromosom khamir menggunakan pulsed field elektroforesis (*PFGE*), analisis mitokondria *DNA* dengan cara analisis fragmen *DNA* hasil restriksi (pemotongan dengan enzim), analisis fragmen pemotongan dari *ribosomal-DNA* yang diamplifikasi dengan *PCR*, dan random amplified polymorphic *DNA* (*RAPD*). Walaupun demikian metode-metode tersebut belum bisa dilakukan sebagai uji rutin laboratorium karena probe oligonukleotida spesifik masih terus dalam pengembangan. Metode tersebut hanya memerlukan waktu dalam beberapa jam untuk mengidentifikasi khamir.

RINGKASAN

Khamir adalah fungi uniseluler yang tumbuh dan berkembang biak dengan membentuk pertunasan (*budding*), kadang-kadang dapat juga mengadakan pembelahan (*fisi*). Khamir termasuk organisme yang eukariotik dan diklasifikasikan ke dalam fungi walaupun ada beberapa spesies khamir yang mempunyai miselium. Khamir dengan meselium disebut khamir menyerupai kapang (*yeast-like mold*). Penggolongan khamir ke dalam genus dan spesies dilakukan berdasarkan pada ciri-ciri morfologi, biokimia, fisiologi dan sifat-sifat molekuler. Setiap genus mempunyai karakteristik yang berbeda-beda. Spesies khamir mempunyai bentuk sel, bentuk askus, letak pertunasan yang bervariasi agar memudahkan pengamatan maupun identifikasi. Identifikasi khamir secara molekuler dapat menghemat waktu dan tenaga, tetapi memerlukan biaya cukup besar dan peralatan mahal serta seorang ahli dibidangnya. Untuk diskripsi dan identifikasi khamir dianjurkan berkonsultasi dengan buku *The Khamir, a Taxonomy Study*, oleh Kurtzman, C.P. and Fell., (1988).

dan cara melakukan isolasi dan -oo0oo- khamir.

beserta penjelasan bab ini diharapkan mahasiswa mampu menjelaskan cara reproduksi khamir pada jenis tertentu, pertumbuhan khamir, mengapa khamir bisa tumbuh dalam makanan kita dan cara mengidentifikasi khamir yang berasal dari makanan.

3.2 Reproduksi Khamir

3.2.1 Reproduksi Vegetatif/Aseksual

Reproduksi aseksual khamir dapat terjadi melalui pertunasan (*budding*), pembelahan (*fisi*), pembentukan sterigmata dan balistospore, dan pembentukan pseudohifa atau hifa yang dapat dilihat dalam Gambar 5. Walaupun terdapat beberapa cara reproduksi aseksual, umumnya khamir memperbanyak diri melalui pertunasan (*budding*).

BAB 3

REPRODUKSI DAN PERTUMBUHAN

3.1 Pendahuluan

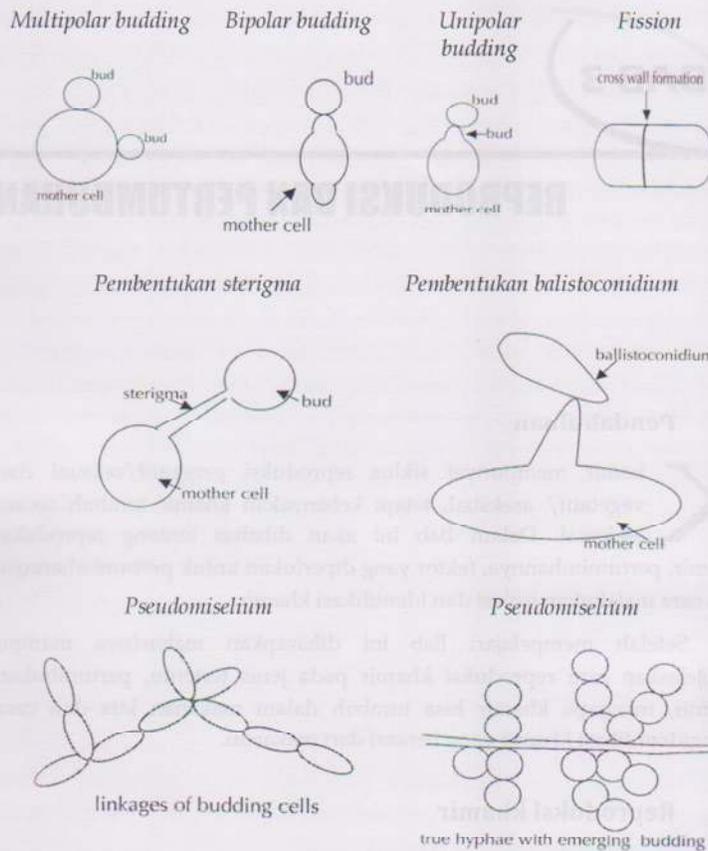
Khamir mempunyai siklus reproduksi generatif/seksual dan vegetatif/ aseksual, tetapi kebanyakan khamir tumbuh secara aseksual. Dalam Bab ini akan dibahas tentang reproduksi khamir, pertumbuhannya, faktor yang diperlukan untuk pertumbuhannya, dan cara melakukan isolasi dan identifikasi khamir.

Setelah mempelajari Bab ini diharapkan mahasiswa mampu menjelaskan cara reproduksi khamir pada jenis tertentu, pertumbuhan khamir, mengapa khamir bisa tumbuh dalam makanan kita dan cara mengidentifikasi khamir yang berasal dari makanan.

3.2 Reproduksi khamir

3.2.1 Reproduksi Vegetatif/Aseksual

Reproduksi aseksual khamir dapat terjadi melalui pertunasan (*budding*), pembelahan (*fisi*), pembentukan sterigmata dan balistospora, dan pembentukan pseudohifa atau hifa yang dapat dilihat dalam Gambar 5. Walaupun terdapat beberapa cara reproduksi aseksual, umumnya khamir melangsungkan reproduksi melalui pertunasan (*budding*).

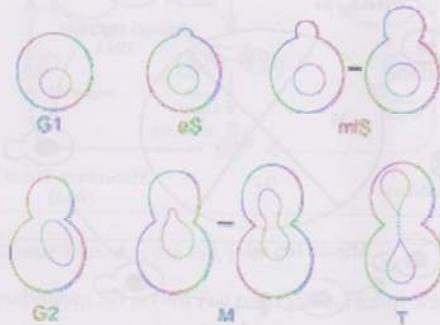


Sumber Gambar: Fleet and Praphailong, 2005

Gambar 3.1 Beberapa Sistem Reproduksi Aseksual Khamir

Pertunasan terjadi ketika sebagian kecil sitoplasma sel induk memisahkan diri dan masuk ke dalam sel anakan, sedangkan pembelahan adalah apabila sitoplasma memisahkan diri dalam jumlah yang sama menjadi dua sel anakan. Proses pertunasan sebuah sel khamir dapat dilihat

pada Gambar 6 dan 7 sebagai berikut, pada fase *G1* sebuah sel tanpa tunas dengan inti bulat kemudian muncul tunas awal dan sel mulai membentuk huruf *S*, sel bentuk *S* dengan tunas yang cukup besar, selanjutnya sel dengan tunas besar membentuk cincin pada leher tunas dengan inti tetap bulat di tengah sel induk. Pada fase *G2* sel bertunas (besar tunas $\frac{2}{3} \geq$ sel induk) dengan inti pada leher tunas, selanjutnya pembelahan mitosis (*M*) inti sel bertunas melebar ke dalam sel anakan, kemudian telofase (*T*) dua globula sel dengan dua inti yang masih dihubungkan oleh benang spindle. Globula sel tersebut akan membesar secara bertahap, dan ketika telah mencapai ukuran hampir sama dengan induk selnya akan memisahkan diri untuk membentuk sel anakan.

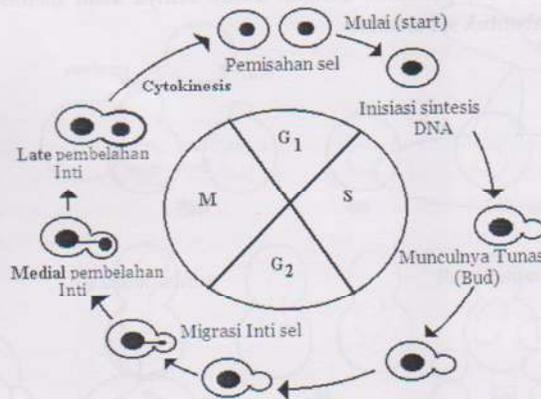


Sumber Gambar: Kurtzman dan Fell, 1998

Gambar 3.2 Proses Pertunasan atau Budding

Kebanyakan spesies khamir melaksanakan pertunasan multipolar atau multilateral yang artinya bahwa tunas bisa terbentuk dari segala sisi tepi permukaan sel (misalnya dalam *Saccharomyces cerevisiae*). Hanya ada beberapa spesies melakukan pertunasan bipolar, yaitu tunas hanya akan muncul dari dua kutub sel berlawanan. Pertunasan bipolar akan membentuk sel menyerupai bentuk lemon atau bentuk apikulata, misalnya

pada *Kloeckera apiculata*/ *Hanseniaspora ovarum*. Pada kondisi tertentu, tunas hanya muncul dari satu sisi pada permukaan sel. Proses ini disebut sebagai pertunasan unipolar dan menghasilkan sel dengan bentuk menyerupai botol atau bola bowling, misalnya pada *Malassezia spp.* Proses pertunasan diatur ditingkat molekul dengan mekanisme yang masih menarik perhatian untuk diungkap. Khamir tidak melangsungkan pertunasan selamanya, tetapi umumnya kemampuan bertunas mengikuti umur khamir. Khamir akan kehilangan kemampuannya untuk bertunas setelah menghasilkan 30-40 tunas (Walker, 1998).

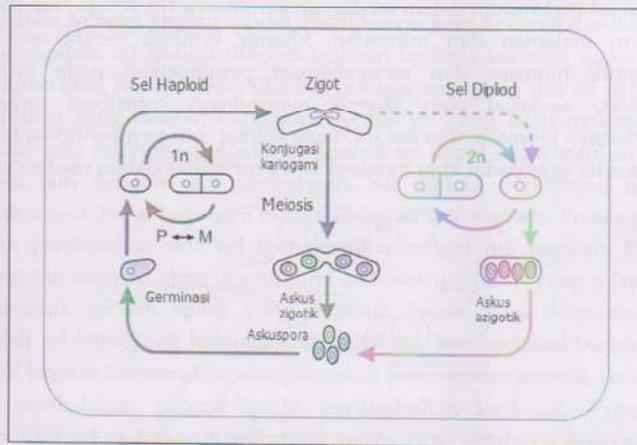


Sumber Gambar: Kurtzman dan Fell, 1998

Gambar 3.3 Reproduksi Aseksual dengan Pertunasan

Tidak semua khamir membentuk pertunasan. *Schizosaccharomyces* melangsungkan pembelahan sel secara fisi, seperti disajikan pada Gambar 8. Pembelahan secara fisi diawali dengan sel yang akan memanjang dan membelah dua oleh adanya septum atau dinding selnya menyeberang. Khamir yang mengadakan pembelahan ini akan menghasilkan sel berbentuk silindris atau bentuk sosis. Sel vegetatif *Schizosaccharomyces*

adalah haploid ($1n$). Bila terjadi kekurangan nutrisi untuk pertumbuhan sel terutama sumber N maka sel haploid dengan mating type berbeda mengadakan konjugasi membentuk zygote ($2n$). Selanjutnya zygote mengadakan pembelahan (*meiosis*) diikuti pembentukan askuspora. Pada saat spora tumbuh membentuk mating type (sel yang bersifat kelamin) yaitu $P&M$.

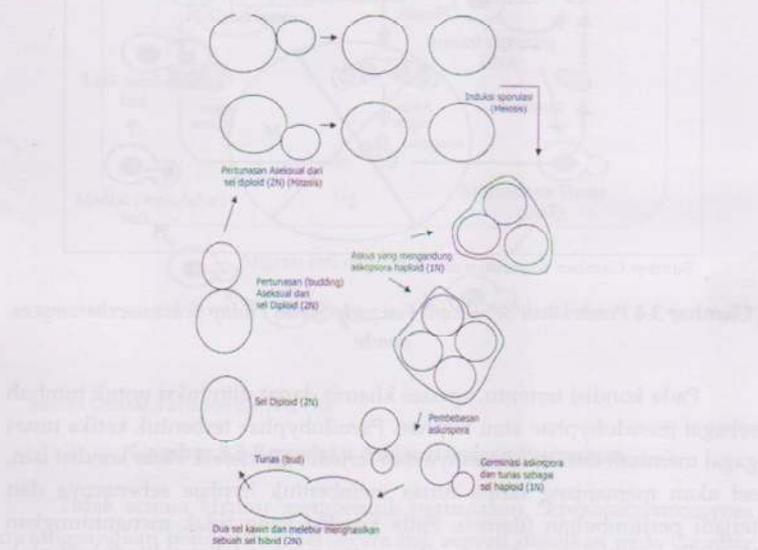


Sumber Gambar: Kurtzman dan Fell, 1998

Gambar 3.4 Pembelahan Sel Secara Fisi pada Siklus Hidup *Schizosaccharomyces pombe*

Pada kondisi tertentu, spesies khamir dapat diinduksi untuk tumbuh sebagai pseudohyphae atau hyphae. Pseudohyphae terbentuk ketika tunas gagal memisah dari induk selnya dan terjadi aglomerasi. Pada kondisi lain, sel akan memanjang tanpa tunas membentuk hyphae sebenarnya dan terjadi pertumbuhan filamen. Pada kondisi yang tidak menguntungkan bagi suatu sel untuk melangsungkan pertunasan, sel dapat diinduksi untuk membentuk spora seperti yang dapat terjadi pada jenis *S.cerevisiae*. Pertunasan dan sporulasi pada *S.cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 9. Pada khamir *Sporidiobolus*, *Bullera* dan *Sporobolomyces* membentuk balistospora atau balistoconidia yang dihasilkan dari sel induk dan

selanjutnya dilepaskan. Setelah sel anakan terbentuk, selanjutnya sel tumbuh mengikuti kurva pertumbuhan mikrobia pada umumnya, yang terdiri dari fase lag, logaritmik/ eksponensial, stasioner, kematian dan otolisis. Fase pertumbuhan pada khamir memerlukan waktu yang lebih panjang dibanding fase pertumbuhan bakteri karena sel khamir lebih besar dibanding sel bakteri. Waktu generasi khamir adalah 1-3 jam. Pada bakteri, populasi sel maksimum dalam media cair umumnya 10^8 - 10^9 cfu/ml. Dalam ekosistem makanan dan minuman, khamir tumbuh secara aseksual, membentuk biomasa dan menyebabkan pembusukan pada produk. Reproduksi aseksual oleh khamir mempunyai kontribusi terhadap meningkatnya biomasa, dan hal ini dapat dilihat dari pembentukan koloni dalam media agar padat atau meningkatnya turbiditas dalam media cair.

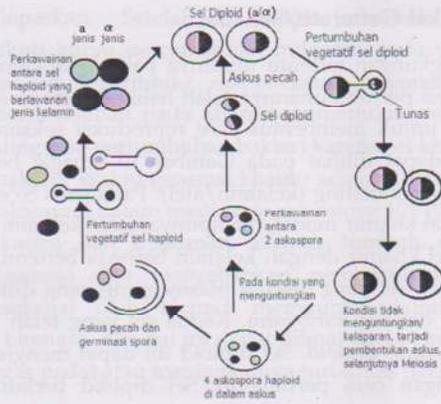


Sumber Gambar: Fleet and Praphailong, 2005

Gambar 3.5 Pembentukan Tunas dan Pembentukan Spora (Sporulasi) pada *Saccharomyces cerevisiae*

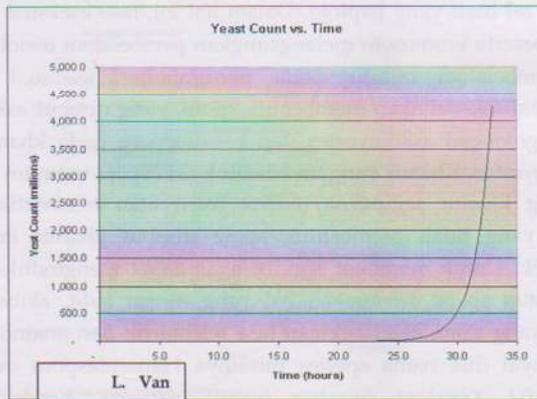
3.2.2 Reproduksi Generatif/Seksual

Pada kondisi lingkungan tertentu misalnya pada kelaparan, keterbatasan nutrisi atau nutrisi pertumbuhannya telah habis, beberapa spesies khamir dapat diinduksi untuk membentuk fase reproduksi seksual. Reproduksi seksual khamir dapat dilihat pada Gambar 10 sebagai berikut, khamir mempunyai dua jenis mating (kelamin/alel). Pada jenis *S.cerevisiae*, yang digunakan sebagai khamir model, mempunyai jenis kelamin disebut alpha dan α . Apabila sel khamir dengan kelamin berbeda bertemu maka terjadi peleburan atau fusi sel yang disebut plasmogami, yang diikuti peleburan inti-intinya yang disebut kariogami. Kedua sel yang telah melebur akan menjadi satu sel yang diploid. Sel diploid ini dapat menghasilkan sel-sel diploid lain dengan cara pertunasan. Sel diploid berkumpul menjadi sebuah askus dan selanjutnya akan memasuki fase meiosis. Proses meiosis adalah pembelahan satu sel menghasilkan empat inti haploid. Masing-masing inti haploid akan diselubungi oleh suatu lapisan yang selanjutnya membentuk sebuah spora yang haploid. Spora akan dilepaskan dan menjadi sel baru yang haploid. Dalam hal ini, fase aseksual berhenti dan inti sel beserta kromosom melangsungkan pembelahan meiotik (kebalikan dari pembelahan mitotik pada pertumbuhan aseksual. Prinsipnya, reproduksi seksual akan membentuk spora, yang disebut askospora pada khamir golongan askomycetes dan basidiospora pada khamir golongan basidiomycetes. Khamir yang membentuk askospora maupun basidiospora tergolong khamir sempurna (*perfect yeast*) atau teleomorfik, sedangkan khamir yang tidak membentuk spora disebut khamir imperfek atau anamorfik. Untuk membuat kondisi agar dapat menginduksi sel khamir membentuk spora merupakan hal yang sangat sulit, akibatnya spesies khamir yang sama kemungkinan bisa teleomorfik dan anamorfik dan bisa mempunyai dua nama spesies misalnya *Hanseniaspora ovarum* (yang teleomorf)/ *Kloeckera apiculata* (yang anamorf). Keadaan ini akan menyulitkan para ahli mikrobiologi. Akan tetapi nama khamir teleomorfik dan khamir anamorfik diberikan secara jelas dalam buku Kurtzman dan Fell (1998), dan Barnett *et al.* (2000).



Sumber Gambar: Kurtzman dan Fell, 1998

Gambar 3.6 Siklus Reproduksi Sexual pada Khamir *Saccharomyces cerevisiae*



Sumber Gambar: Kurtzman dan Fell, 1998

Gambar 3.7 Pertumbuhan sel khamir *S.cerevisiae* Selama Waktu Tertentu

Sel khamir membelah dua sekali dalam satu jam hingga nutrisi yang tersedia habis. Setiap sel anakan membentuk tunas, selanjutnya tunas-tunas akan tumbuh dan seterusnya. Apabila kita siapkan media gula dan air, sel khamir memerlukan waktu 23 jam untuk tumbuh menjadi millimeter kubik sel (mm^3 sel) yang tampak sebagai koloni. Akan tetapi sel tersebut hanya memerlukan 33 jam untuk tumbuh menjadi 1000 kali lipat atau menjadi 10^3 sel. Pertumbuhan ini di plot kan pada Grafik Gambar 11 dibawah ini.

3.3 Ekologi pertumbuhan khamir

Khamir bersifat ubiquitous dan ditemukan di lingkungan tanah, laut, air tawar, udara dan pada permukaan bagian tanaman (daun, bunga, batang, buah dan sayuran). Populasi khamir berkisar diantara 10^1 - 10^3 cfu/ml atau gram. Tetapi populasi khamir dengan populasi tinggi sampai 10^6 - 10^8 cfu/g dapat ditemukan pada tanaman yang mengalami kerusakan, karena nutrisi yang berasal dari tanaman menjadi substrat bagi pertumbuhan khamir. Spesies khamir dapat dipindahkan dari satu habitat ke habitat yang lain oleh insekta (sebagai vektor) yang makan tanaman yang telah membusuk (buah atau sayuran) atau madu dari suatu bunga.

Hubungan antara khamir dengan hewan sangat terbatas karena hampir sebagian besar khamir tidak dapat tumbuh pada suhu disekitar 37°C . Hanya ada beberapa spesies khamir tumbuh dalam saluran usus hewan dan burung. Oleh sebab itu khamir tidak mempunyai reputasi sebagai penyebab penyakit bawaan makanan (*foodborne diseases*). Walaupun demikian khamir juga ditemukan yang bersifat pathogen terhadap manusia. *Candida albicans* menyebabkan infeksi permukaan kulit, saluran kelamin dan saluran tenggorokan. *Cryptococcus neoformans* merupakan khamir pathogen yang menyebabkan infeksi saluran pernafasan dan system saraf pusat.

Karena khamir bersifat ubiquitous, maka semua produk makanan sangat berpotensi terhadap kontaminasi oleh khamir pada tahap produksi maupun penyajian. Kemampuan khamir untuk tumbuh sampai pada populasi lebih besar dari 10^5 cfu/g atau ml (yang dapat mengakibatkan

terjadinya reaksi pembusukan), tergantung pada kondisi intrinsik dan ekstrinsik, serta implisit dalam makanan. Umumnya, bakteri tumbuh lebih cepat daripada khamir dan akan mendominasi pertumbuhan. Akibatnya bakteri akan membusukkan makanan lebih dahulu dari pada khamir. Kondisi yang menghambat pertumbuhan bakteri akan memudahkan khamir untuk tumbuh dan memperbanyak populasi. Oleh sebab itu dalam makanan asam, makanan dengan konsentrasi gula tinggi, maupun makanan dengan konsentrasi garam tinggi, bakteri tidak dapat tumbuh sehingga kemungkinan khamir yang akan berpotensi sebagai pembusuk makanan. Khamir juga bisa tumbuh dalam jumlah besar di dalam makanan yang disimpan pada suhu dibawah 0°C. Khamir dapat menyebabkan pembusukan berbagai macam komoditas makanan (Fleet, 1990, 1992; Deak., 1991; Tudor and Board, 1993). Khamir tidak menyebabkan pembusukan pada susu, tetapi membusukkan produk fermentasi susu, misalnya keju dan yogurt karena menurunnya nilai pH. Jenis khamir tersebut adalah *Kluyveromyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae* dan beberapa spesies *Pichia*, *Candida* dan *Rhodotorula*. Faktor utama penyebab pembusukan adalah penggunaan laktosa, asam laktat dan asam sitrat selama fermentasi, produksi enzim ekstraseluler protease, lipase, dan kemampuannya tumbuh dengan baik pada suhu 5-10°C atau dibawahnya. Pembusukan daging segar lebih sering disebabkan oleh pertumbuhan bakteri, tetapi pembusukan daging beku (daging sapi, ayam, dan ikan) dapat disebabkan oleh khamir yang tumbuh pada suhu rendah. Jenis khamir tersebut adalah *Cryptococcus laurentii*, *Candida zeylanoides*, *Candida scotii*. Produk daging olah seperti daging lapis bumbu, sosis daging yang mengandung kadar garam tinggi atau pH rendah sering ditumbuhi oleh *Debaryomyces hansenii*. Jus buah dengan kisaran pH 3.0-4.0 sering mengalami pembusukan secara fermentatif (tanpa oksigen) oleh *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*. Produk dengan kadar gula tinggi seperti sirup, konsentrat jus buah, kurma, seringkali dibusukkan oleh khamir yang toleran terhadap kadar gula tinggi yaitu *Zygosaccharomyces rouxii*, *Schizosaccharomyces spp.* Khamir *Zygosaccharomyces bailii* merupakan khamir yang sangat toleran terhadap bahan pengawet asam, dan akan membusukkan berbagai produk dengan

kadar asam tinggi, produk mengandung bahan pengawet bensoat atau sorbat, misalnya produk salad dressing, dan saus tomat. Khamir yang toleran terhadap kadar etanol tinggi akan membusukkan produk minuman beralkohol yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia membranifaciens*, *Zygosaccharomyces bailii*, dan *Brettanomyces spp.*

3.4 Faktor-faktor Pertumbuhan

Khamir dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas dan pada medium dengan kandungan etanol sampai dengan 18%. Sebagian besar khamir tumbuh dalam media mengandung sukrosa 55-60%. Khamir dapat memproduksi berbagai macam warna mulai dari krem, pink sampai merah. Askospora dan arthrospora khamir mempunyai resistensi terhadap pemanasan yang cukup baik. Arthrospora kebanyakan hanya dihasilkan oleh jenis khamir berfilamen menyerupai fungi (*yeast-like-fungi*). Di bawah ini diuraikan beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan khamir.

a. Nutrisi

Khamir termasuk dalam mikroorganisme kemoorganotrof yang artinya bahwa khamir memperoleh karbon dan energi dari proses asimilasi dan metabolisme komponen-komponen organik. Gula heksosa (glukosa, fruktosa, sukrosa, maltosa) merupakan sumber utama karbon, tetapi beberapa spesies dapat juga memperoleh karbon hasil asimilasi substrat lain seperti gula pentosa, alkohol, dan asam organik. Ion-ion ammonium inorganik (seperti ammonium sulfat atau ammonium klorid) dan asam amino merupakan sumber nitrogen, tetapi beberapa spesies dapat juga memperoleh nitrogen dari hasil asimilasi nitrat dan nitrit. Dalam kondisi tertentu, sulfur, fosfor, dan ion metal diperlukan dalam jumlah sedikit dan demikian juga vitamin-vitamin (biotin, asam pantotenat, inositol) untuk pertumbuhannya. Pada umumnya hampir semua makanan menyediakan nutrisi yang cukup untuk mendukung pertumbuhan khamir.

b. Suhu

Kebanyakan khamir mengadakan pertumbuhan optimal pada kisaran suhu 20-30°C. Hanya ada beberapa spesies yang bisa tumbuh pada suhu tinggi (40-45°C), dan kebanyakan khamir dapat tumbuh pada suhu rendah dengan kisaran 5-10°C. Khamir yang bisa tumbuh pada suhu ini disebut psikotrof. Karena memiliki sifat psikrotrofik ini, maka khamir secara signifikan dapat menyebabkan pembusukan makanan yang disimpan dingin (suhu refrigerasi). Spesies *Candida*, *Cryptococcus*, dan *Rhodotorula* mampu tumbuh pada suhu dibawah 0°C, dan dapat membusukkan makanan yang disimpan beku. Suhu tidak hanya membatasi pertumbuhan dan percepatan pertumbuhan, tetapi juga mempengaruhi sifat-sifat fisiologi dan biokimia khamir, misalnya toleran terhadap etanol, mampu tumbuh pada kadar gula tinggi dan kadar garam tinggi, resisten terhadap bahan pengawet dan hasil-hasil metabolit. Suhu pertumbuhan beberapa spesies khamir disajikan pada Tabel 3.

Kejadian luar biasa (*outbreak*) pembusukan oleh khamir terhadap produk pangan dengan pengolahan pemanasan, misalnya sirup, soft drink, jus buah, jus konsentrat, menarik

Tabel 3.1 Temperatur Pertumbuhan Minimum, Optimum, dan Maksimum Khamir dalam Makanan Dan Minuman

Jenis Khamir	Suhu °C		
	Minimum	Optimum	Maksimum
<i>Debaryomyces hansenii</i>	0-5	20	35-37
<i>Yarrowia lipolytica</i>	3-4	27	33-37
<i>Pichia anomala</i>	5	-	35-37
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0.5-8	36	46-47
<i>Kloeckera apiculata</i>	3	30	35
<i>Pichia membranifaciens</i>	3-10	-	30
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0-5	28-36	40-45
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	2	20-25	37
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	4	20-25	40

Sumber: Praphailong, 1996

perhatian kita terhadap sifat kemudahan (*suseptibilitas*) ataupun tahan (*resistensi*) khamir pada kerusakan oleh pemanasan.

Pemahaman terhadap Kurva kematian thermal dan nilai reduksi desimal (*decimal reduction* atau *D*), sangat berkaitan dengan diskusi outbreak tersebut dan telah diuraikan dalam publikasi ilmiah (Fleet, 1992). Pada kondisi lingkungan normal, sel khamir dapat diinaktivasi pada suhu 60-65°C. Nilai D_{60° untuk *Saccharomyces cerevisiae* dan *Zygosaccharomyces bailii* dan *Zygosaccharomyces rouxii* pada kisaran 0.1-0.4 menit, tetapi hal ini dapat diperpanjang sampai 5-10 menit tergantung pada konsentrasi larutan (misalnya glukosa atau sukrosa) dalam medium. Nilai D_{60° untuk askospora khamir dapat mencapai 50-150 kali lipat lebih tinggi dibandingkan sel vegetatifnya (Fleet, 1992).

c. pH

Pertumbuhan optimal khamir pada kisaran pH 4.5-7.0. Khamir lebih menyukai kondisi asam. Banyak diantara spesies khamir dapat tumbuh pada pH serendah 1.5-2.0. Dibanding bakteri, khamir dapat tumbuh lebih baik pada kondisi pH rendah. Sifat ini akan mengisyaratkan bahwa khamir lebih banyak tumbuh pada makanan dengan pH rendah (makanan asam). Tabel 4 menyajikan pH optimum untuk pertumbuhan beberapa spesies khamir. Tidak banyak khamir yang bisa tumbuh pada kondisi pH ≥ 9.0 , bahkan hanya ada beberapa spesies yang tumbuh pada pH 7.0-7.5.

d. Oksigen

Khamir memerlukan oksigen sebagai aseptor elektron untuk respirasi dan merupakan faktor esensial untuk sintesis asam lemak dan sterol yang diperlukan untuk penyusunan struktur membrane dan fungsi membran. Kebanyakan khamir melakukan

Tabel 3.2 pH Minimum, Optimum, Maksimum Pertumbuhan Khamir dalam Makanan Dan Minuman

Spesies khamir	pH		
	Minimum	Optimum	Maksimum
<i>Debaryomyces hansenii</i>	3.0	5.5-6.5	8.0-8.5
<i>Yarrowia lipolytica</i>	2.0	-	8.0-8.5
<i>Pichia anomala</i>	1.5	-	8.0-8.
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	2.5	4.0-4.5	8.0-8.5
<i>Kloeckera apiculata</i>	1.5	-	7.5
<i>Pichia membranifaciens</i>	2.0	-	7.5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.5	4.5-5.4	8.0-8.5
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	2.5	4.0	6.5-7.0
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	2.5	3.5-6.0	7.5

Sumber : Praphailong, 1996

pertumbuhan baik dengan cara respirasi maupun secara fermentasi, tergantung pada ada atau tidaknya oksigen (misalnya pada *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*). Pertumbuhan secara fermentasi terjadi tanpa oksigen, tetapi selanjutnya oksigen diperlukan untuk sintesis membrane. Sifat ini tidak sama dengan bakteri, khamir tidak mempunyai sifat obligat anaerobic. Spesies yeast misalnya *Rhodotorula spp* dan *Cryptococcus spp* tidak melangsungkan fermentasi dan hanya tumbuh pada kondisi aerobic. Khamir yang tumbuh secara aerobic dapat membentuk biofilm, masa berbentuk tepung (powdery mass), dan koloni pada permukaan produk. Khamir yang termasuk dalam golongan ini yaitu *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Debaryomyces*.

e. a_w , Konsentrasi Gula, dan Garam Tinggi

Khamir lebih toleran terhadap lingkungan dengan a_w rendah dari pada bakteri, dan kebanyakan khamir dapat tumbuh pada a_w 0.9-0.95. Beberapa spesies bersifat xerotoleran dan tumbuh pada a_w 0.65-0.85, tergantung pada larutan tempat ditumbuhkan. Nilai a_w untuk pertumbuhan beberapa spesies khamir disajikan pada Tabel 5. Khususnya spesies *Debaryomyces hansenii* adalah toleran terhadap garam (salt-toleran), dan dapat tumbuh

pada lingkungan yang mengandung kadar garam (NaCl) 20-24%. Sedangkan *Zygosaccharomyces rouxii* adalah toleran terhadap gula (*sugar-tolerant*) dan dapat tumbuh pada lingkungan dengan kadar gula 60-70% (w/v). Tabel 6 menyajikan konsentrasi NaCl dan sukrosa terhadap pertumbuhan beberapa spesies khamir. Untuk mengatasi lingkungan dengan tekanan osmotik tinggi, khamir memproduksi larutan intraseluler yang bersifat *compatible* dalam konsentrasi besar, seperti gliserol, arabitol, xylitol, dan manitol (Fleet, 1992; Brown, 1990). Produksi alkohol dan turunannya oleh beberap spesies khamir disajikan pada Tabel 7.

Table 3.3 Nilai a_w Minimum Pertumbuhan Khamir dalam Makanan dan Minuman

Spesies khamir	Minimum a_w
<i>Debaryomyces hansenii</i>	0.81-0.84
<i>Yarrowia lipolytica</i>	0.85-0.89
<i>Pichia anomala</i>	0.75-0.84
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	0.75-0.84
<i>Kloeckera apiculata</i>	0.96
<i>Pichia membranifaciens</i>	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.89-0.90
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	0.80-0.85
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.65

Sumber: Praphailong, 1996

f. Antimikrobia

Sejumlah bahan pengawet kemungkinan ditambahkan ke dalam makanan untuk mengontrol pertumbuhan khamir. Sebagian besar bahan pengawet yang digunakan untuk tujuan ini adalah golongan asam-asam lemah misalnya asam benzoat, asam sorbat, asam propionate, dan asam asetat.

Tabel 3.4 Konsentrasi NaCl dan Sukrosa Maksimum untuk Pertumbuhan Khamir Dalam Makanan Dan Minuman

Spesies khamir	Maksimum konsentrasi (%w/v)	
	NaCl	Sukrosa
<i>Debaryomyces hansenii</i>	12-24	50-60
<i>Yarrowia lipolytica</i>	15	-
<i>Pichia anomala</i>	10-15	60
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	10-20	-
<i>Kloeckera apiculata</i>	12	50-60
<i>Pichia membranifaciens</i>	9-20	50-60
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6-10	60
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	9	50-70
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	10-24	60-70

Sumber: Praphailong, 1996; Praphailong and Fleet, 1997

Sulfur dioksida juga sering digunakan untuk mengontrol khamir. Efektivitas bahan-bahan pengawet sangat tergantung pada konsentrasi bahan dan pH makanan. Konsentrasi bahan pengawet yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa spesies khamir disajikan pada Tabel 8. Sebagian besar bahan pengawet efektif pada pH sekitar 5.0 atau dibawahnya, bila proporsi terbesar dari molekulnya berada dalam bentuk tidak terdisosiasi. Daya kerusakan bahan-bahan kimia terhadap khamir sangat bervariasi tergantung dari spesies khamir.

Tabel 3.5 Produksi Berbagai Alkohol oleh Khamir

Spesies khamir	Etanol (%)	Konsentrasi (mg/L)			
		n-propanol	Isobutil alkohol	Isoamil alkohol	Etil asetat
<i>Debaryomyces hansenii</i>	0.2-4.5	3-15	18-29	11-25	100-
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	1-5	-	8.66	73	2000
<i>Kloeckera apiculata</i>	5-6.5	16-32	4-38	4-17	-
<i>Pichia membranifaciens</i>	0.1-0.5	1	1.9	0.5-9.5	25-375
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6-23	9-170	5-78	17-330	15-20
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	5.5-12.5	10-34	12-57	59-140	10-100
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	2.0-7.0	-	-	47	20-55
					-

Sumber : Praphailong, 1996

Zygosaccharomyces bailii dan *Yarrowia lipolytica* khususnya toleran terhadap bahan pengawet dengan konsentrasi tinggi dan kedua spesies ini sering menyebabkan pembusukan makanan yang mengandung bahan pengawet.

Tabel 3.4 Konsentrasi Minimum Asam Bensoat Dan Asam Sorbat Yang Diperlukan Untuk Menghambat Pertumbuhan khamir dalam makanan dan minuman pada pH 5,0-5,5.

Spesies khamir	Asam bensoat	Asam sorbat
<i>Debaryomyces hansenii</i>	200-500	100-500
<i>Yarrowia lipolytica</i>	500-1000	500-1000
<i>Pichia anomala</i>	223	100
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	170-500	500
<i>Kloeckera apiculata</i>	180	210
<i>Pichia membranifaciens</i>	200-700	100-300
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	170-600	200-600
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	600-1400	500-3000
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	200-1000	1000

Sumber: Praphailong, 1996

RINGKASAN

Khamir mempunyai siklus reproduksi seksual dan aseksual, tetapi kebanyakan khamir tumbuh secara aseksual. Reproduksi aseksual terjadi secara pertunasan (budding), pembelahan (fisi), pembentukan sterigmata dan balistospora, dan pembentukan pseudohifa atau hifa. Tidak semua khamir membentuk pertunasan. Spesies *Schizosaccharomyces* mengadakan pembelahan sel secara fisi. Pada kondisi tertentu, spesies khamir dapat diinduksi untuk tumbuh sebagai pseudohyphae atau hphae. Pada kondisi lingkungan tertentu misalnya pada kelaparan, keterbatasan nutrisi atau nutrisi pertumbuhannya telah habis, beberapa spesies khamir dapat diinduksi untuk membentuk fase reproduksi seksual. Khamir bersifat ubiquitus dan ditemukan di lingkungan tanah, laut, air tawar, udara dan pada permukaan bagian tanaman (daun, bunga, batang, buah dan sayuran). Populasi khamir berkisar diantara 10^3 - 10^8 cfu/ml atau gram. Tetapi populasi khamir dengan populasi tinggi sampai 10^6 - 10^8 cfu/g dapat

ditemukan pada tanaman yang mengalami kerusakan, karena nutrisi yang berasal dari tanaman menjadi substrat bagi pertumbuhan khamir. Dalam makanan asam, makanan dengan konsentrasi gula tinggi, maupun makanan dengan konsentrasi garam tinggi, bakteri tidak dapat tumbuh sehingga kemungkinan khamir yang akan berpotensi sebagai pembusuk makanan. Faktor pertumbuhan khamir meliputi nutrisi, suhu, pH, oksigen, Aw, konsentrasi garam dan gula tinggi, dan adanya senyawa antimikroba.

-oo0oo-

No	Spesies Khamir	Aw	pH	Temperatur (°C)	Waktu Inkubasi (jam)	Log ₁₀ CFU/g
1	<i>Candida albicans</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
2	<i>Candida glabrata</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
3	<i>Candida guilliermondii</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
4	<i>Candida kefyr</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
5	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
6	<i>Candida parapsilosis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
7	<i>Candida tropicalis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
8	<i>Candida utilis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
9	<i>Candida zeylanoides</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
10	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
11	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
12	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
13	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
14	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
15	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
16	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
17	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
18	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
19	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5
20	<i>Candida lusitanaensis</i>	0.05	4.5	25	24	7.5

BAB 4

KHAMIR DALAM PANGAN

4.1 Pendahuluan

Khamir sering terdapat dalam makanan dan minuman. Aktivitas pertumbuhan dan metabolismenya dalam makanan dan minuman dapat menyebabkan kerusakan atau menguntungkan dalam hal kualitas produk tergantung pada jenis makanan maupun minuman dan jenis spesies yang dapat tumbuh di dalamnya. Khamir sangat terkenal karena peranannya dalam fermentasi minuman beralkohol dan pembuatan roti (Spencer dan Spencer, 1990; Reed dan Nagodhawithana, 1991; Rose dan Harrison, 1993). Peranan khamir dalam kehidupan manusia ada yang menguntungkan dan ada yang merugikan. Khamir yang menguntungkan adalah pada fermentasi wine, bier, roti, dan makanan tradisional dengan palatabilitas yang lebih baik, mempunyai fungsi dalam sintesa vitamin, lemak, protein tertentu dari gula sederhana, juga dapat berfungsi sebagai bahan additif makanan. Aktivitas pertumbuhan dan biokimiawi selama pertumbuhannya di dalam makanan dapat bermanfaat untuk memperbaiki kualitas makanan, dan dapat juga sebagai penyebab kerusakan makanan, tergantung pada jenis makanan dan khamir yang mampu tumbuh di dalamnya. Dalam Bab ini akan dibahas (1) mengenai sejarah penggunaan khamir dalam makanan dan minuman, (2) aktivitas biokimiawi khamir selama pertumbuhannya dalam makanan dan minuman, serta jenis-jenis khamir yang ditemukan dalam produk-produk

makanan dan minuman, (3) keberadaan khamir di dalam berbagai produk pangan, aktivitas khamir di dalam memetabolisme komponen produk pangan, (4) aktivitas khamir dalam suhu rendah, (5) aktivitas khamir di dalam media berkadar garam atau gula tinggi, dan (6) proses lisis sel khamir, (7) manfaat *S.cerevisiae* dalam pangan, (8) khamir sebagai sumber ingredient, (9) peran khamir dalam fermentasi coklat. Sedangkan khamir yang merugikan yaitu khamir yang menyebabkan pembusukan makanan, menyebabkan penyakit tanaman, hewan dan manusia, akan dibahas pada Bab selanjutnya.

Setelah mempelajari dan memahami Bab ini diharapkan mahasiswa mampu menjelaskan kapan khamir mulai dikenal oleh masyarakat sebagai mikroba yang berfungsi dalam pengolahan makanan dan minuman, aktivitas biokimia khamir selama pertumbuhannya di dalam makanan dan minuman, serta jenis-jenis khamir yang dapat ditemukan dari produk-produk makanan dan minuman.

4.2 Sejarah Penggunaan Khamir dalam Pangan

Sejak dahulu kala, khamir telah digunakan oleh manusia untuk menghasilkan makanan dan minuman yang diinginkan. Khamir pertama kali diamati oleh Antonie van Leeuwenhoek pada tahun 1680, tetapi pada masa itu belum diketahui sebagai makhluk hidup. Selama tahun 1860an Louis Pasteur mempelajari pembuatan bir dan wine dan pada kesimpulannya membuktikan bahwa khamir adalah makhluk hidup yang selama pertumbuhannya dapat mengubah gula menjadi etanol. Orang-orang Mesir zaman itu telah menggunakan khamir dan proses fermentasi dalam memproduksi minuman beralkohol dan membuat roti pada lebih dari 5000 tahun yang lalu. Pada saat itu, fermentasi atau proses biokimia ini masih merupakan misteri dan bahkan dianggap sebagai proses magis. Dari sini dapat dinyatakan bahwa khamir merupakan jasad renik yang pertama yang digunakan manusia dalam industri pangan.

Semula diketahui bahwa fermentasi dalam membuat minuman beralkohol dan roti merupakan proses alami dari aktivitas mikroba

kontaminan didalam tepung, biji-bijian serta sari-buah yang mengandung gula. Selain itu, biang roti (*leaven*) merupakan media yang lembut seperti "adonan", kemudian sebagian kecil dari media ini dapat digunakan sebagai pemula (*starter*) untuk membuat roti dalam jumlah lebih besar. Demikian secara turun temurun proses ini dilakukan, sehingga penggunaan adonan pemula ini menimbulkan kebiasaan untuk menyimpan sebagian dari bir, anggur atau adonan roti yang baik untuk digunakan pada pembuatan berikutnya. Selama ratusan tahun, pembuat roti (*bakers*) memperoleh khamir dari hasil produksi samping pembuatan minuman anggur. Dari pengalaman ini dapat dikatakan bahwa para pembuat roti merupakan pionir dalam memanfaatkan mikroba untuk keperluan industri.

Pengamatan khamir lebih mendalam dipelopori oleh Louis Pasteur pada akhir tahun 1860 yang kemudian menyimpulkan bahwa khamir merupakan mikroba hidup yang bertindak sebagai agensia dalam proses fermentasi. Tidak lama setelah penemuan tersebut, dilakukan upaya untuk meng-isolasi khamir secara murni. Setelah dihasilkan khamir murni, maka mulai dilakukan produksi khamir secara komersial untuk keperluan pembuatan roti. Jenis khamir yang dikembangkan adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang disebut dengan *Baker's yeasts*. Sejak saat itu, perusahaan roti, minuman dan para ahli mulai berupaya untuk memproduksi galur murni khamir yang tepat untuk keperluan industri yang dapat disesuaikan dengan rasa dan kualitas serta karakteristik lainnya. Sedangkan di Indonesia yang dikenal dengan ragi untuk tape sebenarnya ada yang tidak murni dari jenis khamir saja akan tetapi dicampur dengan jenis bakteri dimana disesuaikan dengan kebutuhan produk yang akan dihasilkannya.

Melihat dari sejarahnya khamir sudah dipergunakan hampir di seluruh dunia sebagai starter pada bahan makanan dan minuman fermentasi seperti pada pembuatan roti, bir, *wine*, kecap, kefir, koumiss, keju dan pada makanan fermentasi lainnya. Jenis khamir yang dapat dipakai sebagai starter masih belum sebanyak pemakaian pada bakteri misalnya, yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *S. rouxii*, *Kluyveromyces luctis*, *Kluy. Marxianus Zygosaccaromyces soyae*, *Z. major* dan *Rhodotorula spp.*

Pertumbuhan khamir pada media bahan pangan sangat tergantung pada sifat fisiologisnya, yaitu umumnya khamir tumbuh pada kondisi dengan persediaan cukup air artinya tidak berlebihan. Dibandingkan dengan bakteri, khamir dapat tumbuh dalam larutan yang pekat misalnya larutan gula atau garam, lebih menyukai suasana asam dan lebih bersifat menyukai adanya oksigen. Khamir tidak mati oleh antibiotik, dan beberapa khamir mempunyai sifat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan kapang (*mould*). Dengan sifatnya yang tahan pada lingkungan pekat (garam, asam dan gula) maka pertumbuhan khamir liar sebagai kontaminan perlu diwaspadai dan dikontrol secara ketat sehingga produk-produk fermentasi yang dihasilkan tidak mudah rusak. Di Indonesia produksi makanan tradisional atau makanan fermentasi dengan menggunakan khamir masih belum begitu membudaya jika dibandingkan dengan penggunaan bakteri atau jamur, seperti *Rhizopus spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, dan *Mucor spp.* Bahkan terlihat sangat tertinggal jauh dengan starter yang berasal dari kelompok bakteri asam laktat (BAL) "*friendly bacteria*" yang biasanya dipakai sebagai *Probiotik*. *Probiotik* adalah sekelompok mikroba hidup yang menguntungkan dan digunakan untuk mempengaruhi induk semang melalui perbaikan mikroorganisme dalam saluran pencernaan (Fuller, 1992). Sebagai contoh misalnya pada pembuatan produk susu asam, yogurt, yakult, minuman susu asidophilus, bifidus, dan nata de coco. Tertinggalnya penggunaan khamir dalam pangan, terutama disebabkan karena kurangnya pengetahuan dalam pemanfaatan dan perekayasaan khamir sebagai starter ataupun agen dalam proses fermentasi. Selain itu, secara teknis dirasakan juga kesukaran dalam memperoleh dan mengembangkan spesies yang diinginkan.

4.3 Khamir dalam Produk Pangan

Dalam mempelajari signifikansi (keberadaan) khamir dalam makanan dan minuman, khamir dikelompokkan ke dalam kelompok khamir sejati atau *true yeast* dan kelompok khamir liar atau *wild yeast* (Lodder, 1970; Rose and Harrison, 1993).

1. Kelompok Khamir Sejati (*True Yeasts*)

Kelompok khamir sejati pada dasarnya termasuk kedalam kelas *Ascomycetes*, dengan ciri selalu berspora. Termasuk kedalam kelompok ini antara lain adalah berbagai spesies *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces* dan *Hanseniaspora*. Jenis *yeast* sejati yang umum digunakan dalam industri adalah *Saccharomyces cerevisiae* untuk pembuatan roti, minuman beralkohol, glyserol dan enzim invertase. Pada industri alkohol khamir jenis ini ada yang bersifat fermentasi kuat, yaitu terjadi proses oksidasi yang cepat sehingga sekelompok khamir tersebut akan mengapung di permukaan. Sedangkan kelompok lain adalah yang terdapat di dasar minuman, bersifat fermentasi lambat dan selnya cenderung tidak menggerombol. Khamir yang hidup di dasar botol banyak digunakan pada industri bir. Beberapa khamir yang menapung/di atas dapat hidup pada lingkungan yang tahan gula dan garam, bersifat osmofilik sehingga jenis ini sangat ditakuti karena bisa merusak sirup, madu, molases, kecap dan anggur. Salah satu jenis ini adalah *Zygosaccharomyces spp*, yang sering kali di anggap sebagai khamir kontaminan dalam fermentasi kecap dan anggur.

2. Kelompok Khamir yang Liar (*Wild Yeast*)

Kelompok ini sangat bervariasi tergantung tumbuhnya dalam suatu media, contohnya pada industri fermentasi makanan dan minuman, khamir liar dikenal dengan istilah *wild yeast*, khamir yang datang sendiri dan bukan dipakai sebagai *strater*. Khamir liar ini pertumbuhannya ada yang diharapkan ada yang tidak diharapkan dalam suatu fermentasi. Kelompok khamir liar adalah yang tidak mempunyai spora yaitu *Candida*, *Torulopsis*, *Brettanomyces*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* dan *Kloeckera*.

4.3.1 Khamir dalam Susu dan Produk Olahannya

a. Susu Segar

Khamir terdapat dalam susu segar dan pasteurisasi pada populasi yang rendah, umumnya $< 10^3$ sel/ml. Kelompok khamir yang hidup dalam susu penyimpanan dingin sangat sedikit pertumbuhannya sebab bakteri

psychrotropic lebih cepat tumbuh dalam bahan ini. Akan tetapi bila tidak ada bakteri dalam susu segar maka kompetisi tidak terjadi sehingga khamir akan tumbuh subur. Jadi beberapa spesies seperti: *Candida*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus flavus*, *Saccharomyces cerevisiae* dapat bertumbuh hingga 10^8 - 10^9 sel/ml setelah diinokulasikan dalam susu yang steril (Roostita and Fleet, 1996). Beberapa jenis khamir yang dapat tumbuh dalam susu dan produk-produk olahan susu disajikan pada Tabel 9.

b. Yogurt

Produk yogurt menjadi semakin populer saat ini karena yogurt dapat ditambah dengan berbagai komponen seperti: gula, buah, flavor dan beberapa bahan ke dalam formula aslinya. Starter yang dipakai dalam yogurt kebanyakan adalah *Lactic Acid Bacteria* (LAB). Minuman susu fermentasi berasa asam, menyehatkan dan berasa segar dan telah lama dikenal. Yogurt cukup populer di Indonesia tetapi harganya relatif mahal dibanding dengan susu murni. Di dalam yogurt, kemungkinan bisa ditemukan khamir yang dibawa oleh bahan-bahan tambahan terutama buah-buahan (strawberry, anggur dan sebagainya), sehingga yogurt tersebut harus diperhatikan suhu penyimpanannya agar populasi khamir tetap dan tidak berkembang.

Pertumbuhan khamir sangat menonjol dalam yogurt, karena sifat pertumbuhannya sebagai berikut:

1. Pada temperatur penyimpanan yang rendah (5°C - 10°C).
2. Mempunyai enzim lipolitik dan proteolitik yang menghidrolisa lemak dan protein.
3. Menfermentasi laktosa atau sukrosa, sebagai karbohidrat utama, baik terdapatnya dalam susu secara alami ataupun ditambahkan sebagai citarasa.
4. Memanfaatkan asam laktat dan asam sitrat yang merupakan asam organik utama pada yogurt.

Tabel 4.1 Khamir yang Terdapat dalam Produk Susu

Produk	Jenis Khamir
Susu segar dan pasteurisasi:	<i>Rhodotorula spp.</i> , <i>Candida famata</i> , <i>C. diffluens</i> , <i>C. curvata</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Cryptococcus flavus</i> .
Krim dan mentega:	<i>Rhodotorula rubra</i> , <i>R. glutinis</i> , <i>Candida famata</i> , <i>C. diffluens</i> , <i>C. lipolytica</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> .
Yogurt:	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Candida famata</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Hansenula anomala</i> .
Keju Cottage:	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>C. lipolytica</i> , <i>Candida famata</i> dan <i>Candida</i> yang lain, <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Sporobolomyces roseus</i> .
Keju lunak dimatangkan (aging) dengan kapang	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Candida famata</i> , <i>Candida lipolytica</i> , <i>Pichia membranifaciens</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Zigosaccharomyces rouxii</i> .

Sumber: Fleet, 2006

c. Kefir

Kefir adalah minuman susu berkhasiat dan menyehatkan, merupakan minuman tradisional yang berasal dari penduduk pegunungan Kaukasus, daerah Balkan Turki. Setelah perang Dunia II minuman ini menyebar hingga ke Amerika Serikat, Jerman dan Jepang serta Rusia Barat. Minuman ini dipercaya sejak lama dapat menyembuhkan beberapa penyakit kanker, kolesterol, membantu penderita *lactose intolerance* dan memper lancar buang air besar. Jenis minuman susu ini berasa asam, sedikit alkoholik dan karbonat yang segar (Guan and Brunner, 1987). Susu bahan kefir mula-mula dipasteurisasi (dipanaskan pada suhu 85°C selama 30 menit) dan didinginkan dalam wadah berbahan gelas hingga mencapai suhu kamar (18 - 25°C). Kemudian ditambahkan butiran bibit kefir sebanyak 5 - 6% (50 - 60 g bibit kefir untuk 1 l. susu). Campuran susu dan bibit kefir diinkubasi dengan cara ditinggalkan pada suhu kamar selama 24 - 48 jam, sampai

terjadi penggumpalan sempurna. Selanjutnya, kefir disaring untuk memisahkan butiran kefir yang dapat digunakan untuk membuat kefir baru. Susu kefir hasil saringan dapat ditingkatkan cita rasanya (*flavor*) dengan menginkubasikan kembali selama 24 jam pada suhu kamar, atau akan lebih baik kalau disimpan dalam lemari es pada suhu 8°C selama 24 jam. Seterusnya susu kefir dapat disimpan pada suhu tersebut minimal selama satu minggu. Bibit kefir terdiri atas granula seperti "popcorn" berukuran sebesar biji gandum hingga biji kenari. Butiran itu tumbuh dari ukuran sangat kecil dan terus tumbuh selama inkubasi. Sebanyak 50 g butiran kefir basah dapat tumbuh menjadi dua kali lipat dalam 7 - 10 hari jika dipindahkan ke dalam 500 ml susu segar enam kali seminggu. Untuk menumbuhkan bibit kefir dapat digunakan susu penuh (*whole milk*), susu skim, atau whey susu yang telah dinetralkan. Butir-butir bibit kefir terdiri atas kumpulan mikroorganisme yang dikelilingi matriks berbentuk lendir yang terdiri atas glukosa polisakarida yang disebut kefiran dimana bibit ini adalah campuran bakteri dan khamir, masing-masing berperan dalam pembentukan cita rasa dan struktur kefir. Spesies mikroorganisme dalam bibit kefir di antaranya *Lactococcus lactis*, *Lactobasillus acidophilus*, *L. kefir*, *b. kefirgranum*, dan *L. parakefir* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. *L. kefiranofaciens* sebagai pembentuk lendir (matriks butiran kefir), *Leuconostoc sp.* membentuk diasetil dari sitrat, dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan karbondioksida dari laktosa. Selain itu juga ditemukan *L. brevis*, dan khamir (*Torulopsis holmii* dan *Saccharomyces delbrueckii*). Bibit kefir tidak dapat dikeringkan dengan pemanasan karena sebagian mikroorganisme di dalamnya akan mati. Bibit kefir masih aktif jika diawetkan dengan cara pengeringan beku (*freeze drying*). Tapi cara terbaik menyimpan bibit kefir adalah dengan memindahkan bibit kefir lama ke dalam susu yang dipasteurisasi secara berkala, diinkubasi semalam dan disimpan dalam lemari es bersuhu 4 - 7°C. Dalam kondisi seperti ini bibit kefir tetap aktif selama kurang lebih sebulan. Gizi dan khasiatnya Selama proses fermentasi terjadi perubahan biokimia dari substrat akibat aktivitas bakteri asam laktat heterofermentasi dan khamir alkoholik. Keasaman kefir meningkat dari 0,85% menjadi 1,0% (dihitung sebagai asam laktat) dan pH menurun sampai di bawah 3,0. Juga terbentuk

karbon dioksida sehingga produk mempunyai rasa karbonat. Perubahan itu membentuk cita rasa kefir yang diinginkan. Selama fermentasi terbentuk polimer yang terdiri atas unit-unit gula (galaktosa dan glukosa) dalam jumlah sama yang disebut kefiran. Kefiran berjumlah sekitar 25% dari berat kering butiran kefir dan disintesis bersama sel mikroba baru. Selama fermentasi juga terbentuk senyawa aseton dan diasetil. Kandungan gizi kefir hampir sama dengan gizi susu bahan kefir. Kelebihannya dibandingkan dengan susu segar adalah karena asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk sehingga mencegah kerusakan susu, dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga meningkatkan keamanan produk kefir. Jenis *Saccharomyces fragilis* dan *S. lactis* juga dapat melakukan fermentasi laktosa dalam fermentasi susu (Fleet, G.H. 2003).

d. Koumiss

Di negara Eropah Timur (Mongolia dan Russia) selain susu sapi, yak, dan kambing, susu kuda juga dikonsumsi sebagai minuman segar. Selain itu juga terdapat susu kuda fermentasi yang disebut Koumiss. Susu kuda fermentasi ini di proses dengan menggunakan jasa starter campuran antara bakteri dengan khamir jenis *Kluyveromyces lactis* atau *Kluy. fragilis* (Mambetaliev, 1990). Ada juga yang menggunakan dengan campuran khamir yang lain yaitu *Torula spp.* Minuman susu kuda ini mempunyai komposisi asam amino yang sama dengan susu manusia sehingga susu kuda fermentasi dipercayai sejak lama dapat menyembuhkan tuberkulosis dan radang hati (hepatitis). Minuman ini mempunyai daya simpan cukup lama yaitu 4 minggu pada temperatur 4°C. Penelitian yang dilakukan pada susu kuda yang beredar di wilayah Bandung oleh Roostita dan Udju pada tahun 2001 menunjukkan adanya jenis-jenis khamir antara lain *Hansenula subpelliculosa*, *Candida tropicalis* dan *Pichia etchelsii* dengan total populasi yeast $10^4 - 10^6$ cfu/ml. Khamir ini bukan sebagai starter tetapi sebagai mikroflora normal atau kontaminan yang bekerja sama dengan bakteri sehingga mengakibatkan susu kuda rasanya asam, segar sedikit sepat mempunyai kandungan vitamin C, lysozyme, asam lemak esensial (terutama linoleic dan linolenic) dan laktosa yang tinggi serta asam-asam

organik dan mineral yang rendah. Minuman ini dipercayai sebagai minuman kesehatan dan menyembuhkan beberapa penyakit serta sangat baik dikonsumsi untuk orang-orang tua, bayi dan konsumen yang dalam penyembuhan penyakit.

e. Dadih

Minuman tradisional fermentasi yang dikenal di negara Asia Barat dan Selatan disebut *dahi*, *makham*, *ghee* dan *churpi*, di Asia Tenggara dikenal sebagai *dadih*, *dangke*, *litsusu*, atau *kesong putih*. Di Mongolia disebut *orom*, *xurund*, *bjaslag*, atau *chura koumiss*, di Jepang dikenal dengan *su*, *raku* dan *daiko*. Dadih biasanya terbuat dari fermentasi susu kerbau yang disimpan di dalam ruas bambu segar, ditutup menggunakan daun pisang atau plastik kemudian didiamkan dalam suhu ruang (25 - 30°C) selama 24 - 48 jam. Setelah waktu tersebut, dengan bantuan mikroba yang ada di dalam bambu, air susu akan menggumpal menjadi semi padat seperti puding atau tahu putih. Dadih berasal dari Sumatra Barat, terbuat dari susu kerbau yang prosesnya terjadi secara alami melibatkan bakteri asam laktat. Bakteri ini berasal dari bambu spesial dan akan merubah laktosa menjadi asam laktat. Akan tetapi ternyata proses fermentasi tersebut berlanjut dan terdapat khamir *Candida tropicalis*, *Geotrichum candidum* dan *Saccharomyces cerevisiae* yang berada di dasar bamboo (Roostita *et al.*, 1993). Dadih memiliki aroma, cita rasa dan penampilan yang khas karena adanya pencampuran aroma susu dan bambu. Warna dadih putih kekuningan dan berasa asam. Ada dua jenis bambu yang sering digunakan oleh masyarakat Sumatera Barat, bambu gombang (*Gigantochloa verticillata*) dan bambu ampel (*Bambusa vulgaris*). Pemilihan bambu tersebut didasarkan pada rasa pahit pada bambu, untuk menghindari semut. Bambu yang digunakan adalah yang berumur sedang. Selain itu penutup tempat dadih biasanya menggunakan daun keladi atau daun talas (Surajudin, *et al.*, 2005).

f. Keju

Beberapa literatur menyebutkan bahwa khamir ditemukan dalam produk keju lunak, semi lunak, semi keras dan keju keras. Populasi khamir

diantara kisaran 10^5 - 10^6 sel/g dan pada beberapa jenis keju mencapai 10^7 - 10^8 sel/g (Fleet, 1990). Pembuatan keju melibatkan tiga tahap utama:

1. Pembentukan dadih (*curd*) hasil fermentasi LAB (*Lactic acid bacteria*) dan penambahan enzim proteolitik.
2. Proses lanjutan dari dadih yaitu pemanasan, penambahan garam dan bisa dinokulasi lagi dengan bakteri spesifik atau *mould*.
3. Masa pematangan dadih yaitu dengan menyimpan pada temperatur rendah.

Khamir tumbuh sebagai kontaminasi alami dalam dadih selama pematangan. Pada tahap awal produksi, pertumbuhan khamir tidak signifikan, tetapi pada proses selanjutnya pertumbuhan khamir terlihat signifikan, bahwa khamir oksidatif kebanyakan tumbuh di permukaan keju sedangkan yang semi anaerobik tumbuhnya di bagian tengah keju. Selama proses pematangan terjadi pertumbuhan yang dipengaruhi oleh lingkungan seperti pH rendah, kelembaban yang rendah, konsentrasi garam yang meningkat dan suhu yang dingin. Kondisi ini sangat baik dan selektif bagi pertumbuhan khamir. Signifikansi pertumbuhan khamir ini tergantung juga pada jenis keju, dan beberapa spesies memberikan kontribusi pada flavor dan tekstur. Spesies yang dominan pada keju lunak adalah: *D. hansenii*, *Kluy. Marxianus*, *C. famata*, *C. lipolytica*, *Pichia membranaefaciens*, *P. fermentans* dan spesies *Candida* yang lain (Tabel 9). Sedangkan pada *Australian cheddar cheeses* sering kali ditemukan *Pichia membranaefaciens*, *P. fermentans*, *Candida famata*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluy. marxianus*, *Candida lipolytica* dan *C. catenulata* (Roostita and Fleet, 1996). Khamir juga mempunyai fungsi spesial serta berperan serta dalam proses pemeraman jenis-jenis keju semi lunak yang menggunakan bakteri dan kapang sebagai starternya, misalnya *Roqueford*, *Danish Blue*, *Gorgonzola* dan *Stilton (Blue-veined)*, *Danablu*, *Camembert* serta *Brie*. Pada keju di pasaran ditemukan mold dengan populasi tinggi, hingga 10^6 sel/g (Fleet, 1999) terutama *curd* yang diinokulasi dengan *mould* jenis *Penicillium roquefortii* atau *P. camembertii* sesaat sebelum pematangan terjadi. Pertumbuhan *mould* diikuti oleh pertumbuhan khamir yang secara alamiah terjadi selama pematangan hingga populasi maksimum mencapai 10^8 sel/g. Populasinya

campuran antara spesies yang bersifat oksidatif maupun yang fermentatif baik yang berada di dalam maupun yang di permukaan dadih. Percepatan pertumbuhan khamir sangat bervariasi tergantung pada lokasinya dalam keju, kandungan garam dan jenis keju itu sendiri (Roostita, 1993).

4.3.2 Khamir dalam Daging dan Produk Olahannya

Signifikansi (keberadaan) khamir dalam daging segar sangat berbeda dengan daging olahan. Pada daging segar pertumbuhan khamir tidak diharapkan karena jika pertumbuhannya melebihi 10^5 - 10^6 sel/g daging akan cepat rusak. Oleh karena itu dalam penjualan, daging disarankan disimpan pada suhu almari es (4 - 5°C) dan pada kemasan vakum udara. Keberadaan khamir pada karkas hanya 5-10% dari jumlah total mikroflora karkas dan jumlah ini tidak signifikan untuk dapat menimbulkan kerusakan. Sedangkan pada produk daging olahan, kehadiran khamir ini dapat menambah rasa dan aroma pada sosis fermentasi, misalnya *Debaryomyces hansenii* pada *Italian salami* yang memberikan citarasa produk. Beberapa spesies khamir yang dapat tumbuh dalam daging segar disajikan pada Tabel 10.

4.3.3 Khamir dalam Produk Makanan Lain

Di Indonesia proses fermentasi dengan khamir yang terkenal adalah pembuatan tape, brem dan anggur. Khamir dipakai sebagai starter dan disebut sebagai ragi yang terdiri dari bakteri, jamur dan khamir. Starter khamir ini dipakai sebagai biang atau indukan dengan bahan utamanya adalah bahan-bahan yang mengandung pati misalnya jagung, ubi kayu, beras, ketan dan lainnya. Agar dapat digunakan oleh khamir pati tersebut harus dihidrolisa menjadi gula sederhana dahulu dengan menggunakan enzim mikrobia yang berasal dari indukan pembuatan bir (*malt barley*) atau enzim dari kapang. Penggunaan enzim ini dapat juga dikombinasi dengan penambahan asam atau pemanasan.

Tabel 4.2 Khamir yang Terdapat dalam Produk Daging

Produk	Jenis khamir
Daging segar merah dan unggas:	<i>Candida</i> spp., <i>Rhodotorula</i> spp., <i>Debaryomyces</i> spp.,
Daging Domba beku:	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Trichosporon pullulans</i> .
Daging kalkun beku:	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Candida zeylanoides</i> .
Daging potong atau cincang:	<i>Candida lipolytica</i> , <i>C. zeylanoides</i> , <i>C. lambica</i> , <i>C. sake</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Pichia membranaefaciens</i> .
Daging yang diolah (sosis, salami, frankfurter, ham, bacon):	<i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Candida</i> spp., <i>Rhodotorula</i> spp.

Sumber: Jay et al., 2005.

Jenis khamir yang sering digunakan dalam pembuatan protein sel tunggal adalah *Candida krusei*. *Candida krusei* ini sering ditambahkan ke kultur laktat untuk mempertahankan aktivitas bakteri asam laktat.

Khamir *Candida curvata* dapat menghasilkan trigliserida yang mempunyai titik cair sama dengan mentega biji coklat. Sedangkan *Candida lipolytica* mempunyai kemampuan memodifikasi lemak melalui fermentasi, oleh karena itu khamir ini bisa dimanfaatkan untuk menghasilkan pangan dengan kandungan kolesterol rendah. Jenis khamir yang tahan pada garam dan asam ditemukan pada produk acar, pikle, acar ketimun dan acar sayuran. Dalam produk ini khamir akan mengadakan oksidasi terhadap asam-asam organik sehingga mengurangi rasa asam makanan. Jenis khamir yang tahan pada garam konsentrasi tinggi, misalnya pada ikan asin, dendeng asin, ikan peda, kecap dan tauco, adalah *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Brettanomyces* dan *S. rouxii*.

4.4 Aktivitas Khamir dalam Bahan Pangan

Keberadaan khamir dalam makanan, minuman, dan komoditas lain mempunyai pengaruh sangat signifikan pada kehidupan manusia karena beberapa alasan yaitu (1) kemungkinan khamir termasuk mikroorganisme patogen sehingga dapat membahayakan kesehatan masyarakat, (2) kemungkinan khamir mempengaruhi citarasa suatu produk sampai pada titik tertentu sehingga makanan tersebut dikatakan busuk dan tidak layak dikonsumsi, (3) beberapa spesies khamir dapat merubah citarasa yang diinginkan pada suatu produk misalnya fermentasi makanan dan minuman.

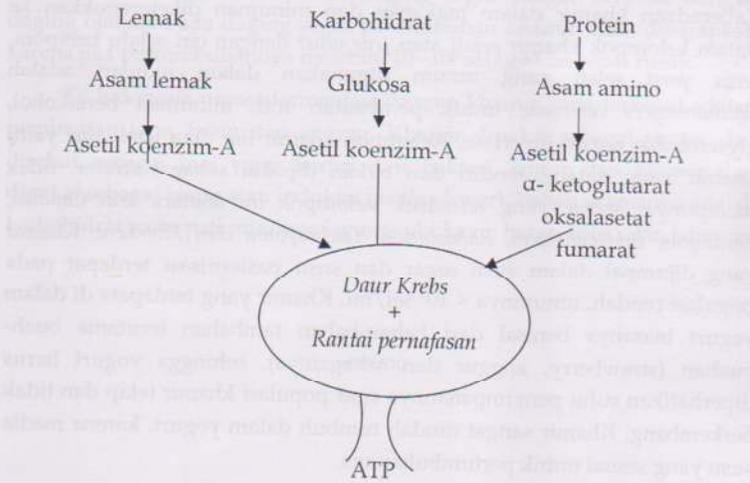
Sebagian besar khamir tidak menghasilkan enzim ekstraseluler yang merombak pati (amilosa, amilopektin), selulosa, xilan, atau pectin. Hanya ada beberapa spesies khamir yang mempunyai karakteristik tersebut. Strain yang mampu mendegradasi pectin yaitu *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula* dan *Cryptococcus*. Spesies tersebut juga dapat menyebabkan pembusukan pada buah dan sayuran. Sedangkan khamir penghasil amylase, seperti *Saccharomyces fibuligera*, *Debaryomyces occidentalis*, dan *Saccharomyces diasticus* berkaitan dengan pembusukan minuman beralkohol bir. Kebanyakan khamir tidak memproduksi enzim ekstraseluler protease. Tetapi ada beberapa khamir penghasil enzim ekstraseluler protease yang merusak protein susu, yaitu *Yarrowia lipolytica*, *Rhodotorula* dan *Cryptomyces*. Produksi enzim ekstraseluler beberapa spesies khamir disajikan pada Tabel 4.3.

Selama pertumbuhannya, khamir memetabolisme komponen-komponen penyusun makanan untuk menghasilkan metabolit sebagai produk akhir. Akibatnya, sifat-sifat kimia, fisik, dan sensori makanan akan mengalami perubahan oleh aktivitas khamir tersebut. Keragaman terhadap perubahan dalam makanan tersebut tergantung dari aktivitas masing-masing khamir yang tumbuh dalam makanan tersebut. Di dalam proses metabolisme makhluk hidup mendapat, mengubah, dan

Tabel 4.3. Enzim Ekstraseluler Hidrolitik Khamir

Jenis khamir	Enzim ekstraseluler			
	Protease	Lipase	Amylase	Pektinase
<i>Debaryomyces hansenii</i>	+	+	+	-
<i>Yarrowia lipolytica</i>	+	+	+	-
<i>Pichia anomala</i>	+	+	+	+
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	+	-	-	+
<i>Kloeckera apiculata</i>	+	-	-	+
<i>Pichia membranifaciens</i>	+	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	+
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	-	-	-	-

Sumber: Praphailong, 1996



Sumber : Wirahadikusumah, 1985

Gambar 4.1 Metabolism Lemak, Karbohidrat dan Protein Melalui Siklus Krebs Sebagai Penghasil Energi.

memakai senyawa kimia dari sekitarnya untuk mempertahankan hidupnya. Metabolisme meliputi proses sintesis atau anabolisme dan proses penguraian atau katabolisme senyawa atau komponen dalam sel hidup termasuk di dalam sel khamir. Semua reaksi metabolisme dikatalisis oleh enzim dan sebagian besar proses metabolisme terjadi di dalam sel. Jalur daur Krebs merupakan jalur metabolisme yang utama dari berbagai senyawa hasil metabolisme, yaitu hasil katabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (Gambar 14). Asetil koenzim-A sebagai hasil katabolisme lemak dan karbohidrat, oksaloasetat, fumarat, dan ketoglutarat sebagai hasil katabolisme asam amino dan protein, masuk ke dalam daur Krebs untuk selanjutnya dioksidasi melalui beberapa tahap reaksi yang kompleks menjadi CO_2 , H_2O , dan energi ATP.

RINGKASAN

Keberadaan khamir dalam makanan dan minuman dikelompokkan ke dalam kelompok khamir sejati atau *true yeast* dengan ciri selalu berspora, jenis *yeast* sejati yang umum digunakan dalam industri adalah *Saccharomyces cerevisiae* untuk pembuatan roti, minuman beralkohol, glyserol dan enzim invertase. Kelompok khamir liar atau *wild yeast* yaitu khamir yang datang sendiri dan bukan dipakai sebagai starter, tidak mempunyai spora, yang termasuk kelompok ini antara lain *Candida*, *Torulopsis*, *Brettanomyces*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* dan *Kloeckera*. Khamir yang dijumpai dalam susu segar dan susu pasteurisasi terdapat pada populasi rendah, umumnya $< 10^3$ sel/ml. Khamir yang terdapat di dalam yogurt biasanya berasal dari bahan-bahan tambahan terutama buah-buahan (strawberry, anggur dan sebagainya), sehingga yogurt harus diperhatikan suhu penyimpanannya agar populasi khamir tetap dan tidak berkembang. Khamir sangat mudah tumbuh dalam yogurt, karena media susu yang sesuai untuk pertumbuhannya.

Kefir, minuman susu berkhasiat dan menyehatkan, merupakan minuman tradisional yang berasal dari penduduk pegunungan Kaukasus, daerah Balkan Turki. Mikroorganisme yang terdapat dalam bibit kefir adalah campuran bakteri dan khamir, diantaranya *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. kefir*, *b. kefirgranum*, dan *L. parakefir* yang

berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa susu. Bibit kefir dapat diawetkan dengan cara pengeringan beku (*freeze drying*).

Susu kuda fermentasi disebut Koumiss, dibuat secara fermentasi menggunakan starter campuran antara bakteri dengan khamir jenis *Kluyveromyces lactis* atau *Kluy. Fragilis*. Di Indonesia minuman yang menyerupai Koumiss disebut Dadih, yaitu minuman tradisional terbuat dari fermentasi susu kerbau yang disimpan di dalam ruas bambu segar, ditutup menggunakan daun pisang atau plastik kemudian didiamkan dalam suhu ruang (25 - 30°C) selama 24 - 48 jam.

Khamir ditemukan dalam produk keju lunak, semi lunak, semi keras dan keju keras. Populasi khamir di dalam keju diantara kisaran 10^5 - 10^6 sel/g dan pada beberapa jenis keju mencapai 10^7 - 10^8 sel/g.

Keberadaan khamir dalam daging segar sangat berbeda dengan daging olahan. Pada daging segar pertumbuhan khamir tidak diharapkan karena jika pertumbuhannya melebihi 10^5 - 10^6 sel/g akan cepat rusak.

Di Indonesia proses fermentasi dengan khamir yang terkenal adalah pembuatan tape, brem dan anggur. Khamir dipakai sebagai strater dan disebut sebagai ragi yang terdiri dari bakteri, jamur dan khamir dan dipakai sebagai biang atau indukan (*mother liquor*). Bahan utamanya adalah karbohidrat yaitu pati misalnya jagung, ubi kayu, beras, ketan dan lainnya.

-oo0oo-

Di dalam Bab ini akan dibahas pembusukan produk pangan oleh khamir, dan kontrol terhadap pembusukan yang disebabkan oleh khamir.

BAB 5

PEMBUSUKAN PANGAN OLEH KHAMIR

5.1 Pendahuluan

Walaupun kebanyakan khamir tidak membahayakan manusia karena berperan dalam pembuatan roti, bir, wine, dan produk fermentasi lain (Rose and Harrison, 1993). Khamir mempunyai efek merugikan karena dapat menyebabkan alergi pada beberapa individu dan menyebabkan pembusukan makanan (Jay et al., 2005). Pembusukan ini ditandai dengan perubahan flavor, bau, tekstur, dan penampilan suatu produk. Kerusakan makanan yang disebabkan oleh khamir secara ekonomis sangat merugikan, walaupun demikian kejadian ini tidak sesering pembusukan yang disebabkan oleh bakteri dan fungi lain. Pembusukan makanan oleh khamir terbatas pada produk dengan pH rendah atau dengan konsentrasi gula tinggi. Kondisi intrinsik ini biasanya tidak disukai oleh bakteri sehingga tidak terjadi kompetisi antara khamir dan bakteri. Pembusukan oleh khamir sangat erat kaitannya dengan aktivitas biokimia dan fisiologi khamir. Khamir mempunyai efek merugikan karena ditemukan dalam saluran pencernaan manusia, yang artinya khamir dapat menyebabkan penyakit. Oleh karena itu perhatian akan khamir terhadap kesehatan masyarakat perlu ditekankan.

Di dalam Bab ini akan dibahas pembusukan produk pangan oleh khamir, dan kontrol terhadap pembusukan yang disebabkan oleh khamir.

Bahasan dalam Bab ini dibatasi pada produk makanan dan minuman dan tidak membahas pembusukan pada produk farmasi, obat dan bahan kesehatan lainnya. Khamir penyebab penyakit juga tidak dibahas dalam tulisan ini.

Setelah mempelajari bab ini diharapkan mahasiswa mampu menjelaskan mengenai pembusukan produk-produk pangan dan minuman yang disebabkan oleh khamir, jenis-jenis yeast penyebab pembusukan, dan kontrol terhadap pembusukan.

5.2 Pembusukan pada Produk Makanan Dan Minuman

5.2.1 Daging

Pembusukan pada daging umumnya disebabkan oleh bakteri, dan telah banyak diulas oleh Jay *et al.* (2005), tetapi pembusukan daging dan produk olahannya yang disebabkan oleh khamir belum banyak diketahui. Hal ini karena bakteri lebih mudah tumbuh dan lebih cepat bermultiplikasi dari pada khamir, akibatnya okurensi bakteri lebih signifikan dalam daging. Bakteri mudah tumbuh dan berkembang biak pada daging segar yang disimpan dalam suhu refrigerasi dan suhu ruang, tetapi tidak mudah tumbuh pada daging olah atau daging segar yang disimpan pada suhu selain suhu refrigerasi. Dalam kondisi tersebut pertumbuhan bakteri terhambat sehingga mendorong pertumbuhan khamir. Khamir penyebab pembusukan pada beberapa produk daging segar dan olahannya diuraikan sebagai berikut di bawah ini.

a. Daging Sapi dan Unggas

Daging yang baru saja dipotong seperti daging sapi, unggas, kambing, babi, dan domba mengandung jumlah khamir yang sangat rendah yaitu 10^1 sampai 10^3 sel/g atau cm^2 (Hsieh and Jay, 1984). Pertumbuhan khamir juga sangat terbatas pada suhu penyimpanan refrigerasi (4 sampai 15°C), pada keadaan ini populasinya dapat meningkat tetapi tidak melebihi 10^5 sampai 10^6 sel/g atau cm^2 . Teknologi pengemasan merupakan hal yang perlu mendapatkan perhatian dalam mengatasi meningkatnya populasi khamir

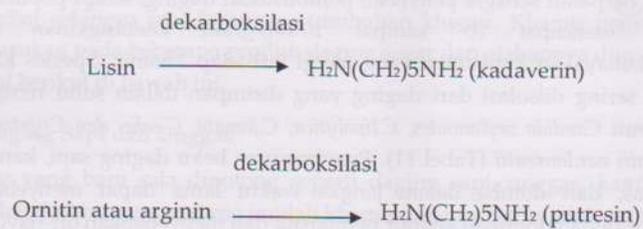
dalam produk-produk daging. Akan tetapi pengemasan secara vakum sangat tidak dianjurkan dan pengemasan terkendali yang mengandung karbon dioksida dilarang dilakukan (Fleet, 1992). Secara keseluruhan populasi khamir dalam karkas utuh segar dan potongan hanya 5 sampai 10% dari total mikroorganisme yang terdapat dalam produk dan tidak signifikan sebagai penyebab pembusukan. Tetapi bila terdapat kondisi yang menekan pertumbuhan bakteri pada daging segar, misalnya penambahan zat antibiotika atau bahan-bahan pengasam seperti asam laktat, asam sitrat dan asam asetat, maka akan menyebabkan pertumbuhan khamir dalam produk selama penyimpanan suhu refrigerasi. Analisis taksonomi khamir dalam daging segar tidak diulas secara mendetil karena populasinya sangat rendah dan pertumbuhannya tidak signifikan. Spesies khamir yang sering ditemukan dalam produk daging segar terutama adalah *Candida*, *Rhodotorula*, dan mungkin dijumpai juga *Saccharomyces* dan *Debaryomyces*. Dalam daging giling dan daging potong yang dijual eceran mengandung populasi khamir sekitar 10^2 - 10^7 sel/gram. Khamir mudah berkembang biak dalam daging potong yang disimpan pada suhu refrigerasi, tetapi populasinya tidak melebihi 10^6 - 10^7 sel/gram, dan masih belum tergolong signifikan sebagai pembusuk dibanding bakteri. Pengemasan dalam atmosfer terkendali dengan CO_2 dan bukan dengan nitrogen dapat menghambat pertumbuhan khamir. Walaupun khamir tidak berperan sebagai penyebab pembusukan daging, tetapi populasinya yang mencapai 10^6 sampai 10^7 sel/gram kemungkinan dapat membahayakan konsumen yang alergi terhadap khamir. Spesies khamir yang sering diisolasi dari daging yang disimpan dalam suhu refrigerasi meliputi *Candida zeylanoides*, *C.lipolytica*, *C.famata*, *C.sake*, dan *Cryptococcus laurentii var.laurentii* (Tabel 11). Penyimpanan beku daging sapi, kambing, unggas, dan domba dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan pertumbuhan dominan khamir pembusuk dan menyebabkan off-flavor.

Pembusukan daging pada suhu rendah diikuti oleh timbulnya senyawa penyebab off-flavor yaitu amonia, H_2S , indol, dan amina. Senyawa indikator pembusukan daging yaitu diproduksi diamina kadaverin dan putresin oleh mikroflora pembusuk di dalam daging. Reaksi pembentukan senyawa tersebut disajikan pada Gambar 13 (Jay *et al.*, 2005).

Tabel 5.1 Khamir Pembusuk Produk Daging

Jenis Produk	Jenis Khamir
Daging sapi, unggas	<i>Candida</i> spp, <i>Rhodotorula</i> spp, <i>Trichosporon</i>
Daging kambing beku	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>C. infirmo-manialus</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Trichosporon pullulans</i> .
Daging kalkun beku	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Candida zeylanoides</i>
Daging sapi giling	<i>C. sake</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Pichia membranifaciens</i> .
Daging ikan olahan	<i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>C. spp</i> , <i>Rhodotorula spp</i> .
Udang	<i>Debaryomyces spp</i> , <i>Candida spp</i> , <i>Rhodotorula spp</i> , <i>C. lipolytica</i> .
Shelfish (kerang)	<i>Candida spp</i> , <i>Rhodotorula spp</i> , <i>Trichosporon spp</i> .
Crabmeat (kepiting)	<i>C. lipolytica</i> , <i>Rhodotorula rubra</i> , <i>Candida spp</i>
	<i>Rhodotorula spp</i> , <i>Candida spp</i> , <i>Cryptococcus spp</i> , <i>Trichosporon spp</i>

Sumber: Fleet, 1992; Lowry, 1984; Barnes, 1978; Dalton, 1984.



Gambar 5.1 Reaksi Dekarboksilasi Pembentukan Senyawa Kadaverin Dan Putresin Oleh Mikroflora Pembusuk Dalam Daging

Dalam kondisi beku, suhu rendah dan a_w rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri di permukaan daging dan menyebabkan pertumbuhan khamir, yang berawal dari 10 sampai 10^3 sel/cm sampai 10^6 - 10^7 sel/cm. Dalam daging kambing dan unggas spesies yang dominan sebagai pembusuk adalah *Cryp.laurentii var laurentii* dan *C.zeylanoides* (Tabel 16). Kedua spesies ini bersifat lipolitik sehingga dapat mendegradasi daging dan menyebabkan pembusukan. Pembusukan daging beku oleh khamir yang dapat mengakibatkan *off-flavor* dan "taint" lebih sering ditemui dan perlu dilakukan penelitian.

a. Daging Sapi dan Daging Unggas Olahan

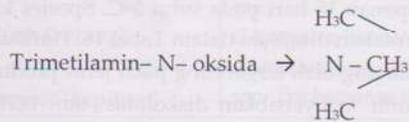
Berbeda dengan daging segar, produk daging olahan sangat signifikan terkontaminasi oleh khamir dengan populasi 10^5 - 10^7 sel/gram terutama daging olah yang disimpan dalam kemasan vakum (Siward *et al.*, 1983). Dalam kornet beef kemasan vakum mengandung populasi khamir 10^3 - 10^7 sel/gram selama penyimpanan 15 hari pada suhu 5°C . Spesies khamir yang terdapat dalam daging olahan disajikan dalam Tabel 16. Pembusukan oleh khamir dalam produk daging olah tergantung pada jenis produknya. Pada permukaan sosis, khamir menyebabkan diskolorasi dan berlendir, pada daging iris, khamir menyebabkan menggembungnya kemasan oleh produksi gas. Pembusukan yang ditandai dengan *off-flavor* dan *taint* disebabkan oleh asetaldehid sebagai hasil metabolit khamir. Acetaldehid dapat menetralisasi efek bahan pengawet yang digunakan yaitu sulfur dioksida, sodium nitrit yang ditambahkan sebagai bahan kuring dan pengawet. Selain itu, pertumbuhan khamir juga diperlukan dalam fermentasi sosis, karena menurut Grazia *et al.* (1989) mempunyai pengaruh positif, misalnya pertumbuhan *D.hansenii* dalam Italian salami.

b. Sea-Food

Khamir terdapat dalam atmosfer akuatik pada populasi 10^2 - 10^3 sel/ml (Jay *et al.*, 2005). Jumlah populasi dan spesies bervariasi tergantung pada derajat pencemaran dalam lingkungannya. Oleh karena itu di dalam usus udang, ikan, kepiting sering mengandung khamir. Populasi khamir umumnya $<10^3$ sel/gram atau cm dan jumlah ini merupakan $<5\%$ dari total

populasi mikroorganisme. Menurut studi yang dilakukan di Jepang, khamir lebih signifikan penyebab pembusukan pada produk makanan hasil laut (*seafood*). Khamir *C.lipolytica* dalam makanan hasil laut menghasilkan nitrogen yang volatil. Perubahan warna pink atau merah pada daging oyster selama penyimpanan beku dan refrigerasi disebabkan oleh pertumbuhan genus *Rhodotorula*. Peranan khamir dalam pembusukan seafood dan kemampuan khamir tumbuh pada kondisi penyimpanan yang berbeda memerlukan studi ekologi lebih mendalam.

Pembusukan pada ikan ditandai dengan terbentuknya senyawa trimetilamin (TMA) yang berasal dari perombakan trimetilamin-N-oksida (TMAO), karena daging ikan mengandung senyawa TMAO dan tidak mengandung atau sangat sedikit sekali senyawa TMA (Siward *et al.*, 1983). Pembentukan senyawa TMA melalui reaksi reduksi senyawa TMAO oleh mikroflora pembusuk dalam ikan disajikan sebagai berikut.



Terbentuknya senyawa TMA merupakan hasil aktivitas mikroflora di dalam ikan. Selain TMA, senyawa lain yang menjadi indikator pembusukan ikan adalah CO_2 , diamina, dan histamin. Histamin dihasilkan dari perombakan asam amino yang mengandung histidin oleh mikroflora penghasil histidin. Reaksi pembentukan histamin disajikan sebagai berikut:

dekarboksilasi



Kadaverin dan putresin merupakan senyawa diamina penting yang perlu dideteksi sebagai indikator pembusukan ikan, daging maupun daging unggas.

5.2.2 Produk Susu

Studi mengenai pertumbuhan khamir penyebab pembusukan dalam produk susu telah dilakukan oleh Fleet, dan Marth. Khamir penyebab pembusukan pada produk susu dan olahannya diuraikan sebagai berikut.

a. Susu, Krem, dan Mentega

Khamir terdapat dalam susu segar dan susu pasturisasi pada populasi $<10^3$ sel/ml (Fleet, 1992). Khamir tersebut sangat jarang tumbuh pada penyimpanan suhu refrigerasi, tetapi bakteri psikotrofik tumbuh sangat cepat. Apabila kompetisi pertumbuhan dengan bakteri tidak terjadi maka pertumbuhan khamir dalam susu akan sangat baik. Tabel 12 menyajikan khamir yang diisolasi dari susu dan produk olahan susu. Spesies *Candida*, *Kluyveromyces marxianus*, *Cryptococcus flavus*, dan *Saccharomyces cerevisiae* akan segera tumbuh mencapai populasi 10^8 - 10^9 sel/ml setelah diinokulasi ke dalam susu steril Fleet, 1990). Susu kental manis sangat mudah rusak dan ditandai dengan produksi gas dari fermentasi gula oleh aktivitas khamir, karena bakteri tidak dapat tumbuh dalam produk dengan konsentrasi gula tinggi dan a_w rendah. Produk *healthy*

Tabel 5.2 Khamir Pembusuk Produk Susu

Jenis produk	Jenis khamir
Susu segar/pasturisasi	<i>Rhodotorula spp</i> , <i>Candida famata</i> , <i>C curvata</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Cryptococcus flavus</i> , <i>C.diffluens</i> .
Krem dan mentega	<i>Cryptococcus flavus</i> , <i>C.diffluens</i> .
Yogurt	<i>Cryp.laurentii</i> , <i>C.diffluens</i> , <i>C.lipolytica</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>C.famata</i> , <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Hansenula anomala</i> , <i>Candida spp</i> .
Cottage cheese dan fresh Cheese	<i>Kluy.marxianus</i> , <i>C.lipolytica</i> , <i>Candida spp</i> , <i>Cryp.laurentii</i> , <i>sporobolmyces roseus</i> .
Mold-repined soft cheese	<i>Kluy.marxianus</i> , <i>D.hansenii</i> , <i>C.famata</i> , <i>C.lipolytica</i> , <i>Pichia membranafaciens</i> , <i>P.fermentans</i> , <i>S.cerevisiae</i> , <i>Zygosaccharomyces Rouxii</i> .

Sumber: Fleet dan Mian, 1990; DeBoek, 1987; Fleet, 1992.

milk yaitu produk susu yang mengandung bakteri asam laktat *Lactobacillus acidophilus* atau *bifidobacteria* mudah ditumbuhi oleh khamir pembusuk.

Khamir juga dapat membusukkan produk susu tinggi lemak, atau mentega, karena sifat lipolitik yang terdapat pada beberapa spesies *Candida*, *Rhodotorula* dan *Cryptococcus* (Green and Ibe, 1987). Khamir ini dapat tumbuh dalam krem susu dan pada permukaan mentega. Karena mentega mengandung asam lemak tidak jenuh, maka produk ini mudah mengalami dekomposisi atau ransiditas. Ransiditas dapat terjadi secara hidrolisis maupun oksidasi. Ransiditas hidrolisis disebabkan oleh reaksi antara lemak dan air dengan adanya katalis, atau disebabkan oleh aktivitas enzim lipase. Mentega yang ditumbuhi oleh khamir pembusuk lipolitik akan terjadi hidrolisa trigliserida menghasilkan gliserol dan asam lemak bebas. Selanjutnya asam lemak bebas melangsungkan reaksi otooksidasi yang dapat menimbulkan bau tengik. Kerusakan mentega lebih cepat terjadi bila mentega juga dibiarkan terbuka.

Laktosa dalam krem susu atau gula yang ditambahkan dalam krem manis dapat difermentasi oleh khamir menghasilkan gas yang ditandai oleh permukaan berbusa. Khamir penyebab pembusukan pada krem dan mentega tidak banyak ditemukan. Populasi khamir dalam mentega krem sekitar 10^3 - 10^4 sel/g sampai 10^4 - 10^5 sel/g, dan dapat meningkat 100 kali lipat pada penyimpanan suhu 5°C selama 10 hari (Fleet, 1992).

b. Yogurt

Yogurt sudah populer di beberapa negara sejak 30-40 tahun lalu. Popularitas yogurt meningkat dengan berkembangnya teknologi pengolahan yogurt dengan menambahkan gula, buah-buahan, flavor ke dalam formula dasar yogurt. Pembusukan yogurt oleh khamir menjadi masalah baru di industri pengolahan. Khamir yang terdapat dalam yogurt berasal dari ingredien khususnya buah-buahan, dan juga dari peralatan pengolahan yang tidak dibersihkan dan tidak mengikuti program sanitasi yang benar. Sumber kontaminan khamir yang lain adalah dari kultur starter bakteri asam laktat yang digunakan dalam fermentasi. Bila yogurt diproduksi mengikuti prosedur pelaksanaan pengolahan yang baik (good

manufacturing practices/GMP) seharusnya hanya mengandung khamir \leq sel/gram. Yogurt yang tidak ditumbuhi oleh khamir bisa tahan 3 sampai 4 minggu (Fleet, 1990). Pembusukan yogurt terjadi bila populasi khamir mencapai 10^6 - 10^7 sel/gram, dan ditandai oleh pengelembungan kemasan karena produksi gas oleh fermentasi khamir (Green and Ibe, 1987; Fleet, 1990). Yogurt yang mengalami kerusakan oleh khamir mempunyai ciri organoleptik *yeasty*, flavor dan aroma fermentasi dengan tekstur bergas, yang dapat merobek kemasan. Spesies khamir pembusuk yang diisolasi dari yogurt disajikan dalam Tabel 17. Khamir yang mudah tumbuh di dalam yogurt umumnya mempunyai sifat-sifat: (1) tumbuh pada suhu rendah (5 - 10°C) pada penyimpanan yogurt, (2). Memproduksi enzim lipolitik dan proteolitik yang menghidrolisa lemak susu dan protein, (3). Memfermentasi laktosa atau sukrosa yang merupakan komponen karbohidrat utama dalam yogurt natural dan yogurt bercitarasa, (4) Mengonsumsi asam laktat dan asam sitrat yang merupakan asam organik utama dalam yogurt.

c. Keju

Keberadaan khamir dalam keju telah lama diketahui. Jenis-jenis keju yang sering ditumbuhi oleh khamir yaitu *soft cheese*, *semisoft cheese*, *semihard cheese*, *hard cheese*. Pada beberapa jenis keju jumlah ditemukan sebesar 10^5 sampai 10^6 sel/gram dan populasi paling tinggi jumlah yang ditemukan dalam keju adalah 10^7 - 10^8 sel/gram (Fleet and Mian, 1990).

Pembuatan keju meliputi tiga tahapan yaitu;

1. Pembuatan dadih (*curd*) oleh fermentasi susu dengan bakteri asam laktat dan penambahan enzim proteolitik.
2. pengolahan dadih dengan pemanasan, penambahan garam, dan kadang-kadang dilakukan inokulasi dengan bakteri atau kapang tertentu.
3. maturasi dadih dengan penyimpanan pada suhu rendah.

Khamir tumbuh sebagai kontaminan alami di dalam dadih selama tahap maturasi. Selama maturasi keju menyediakan kondisi lingkungan dengan pH rendah, kandungan air rendah, konsentrasi garam yang

meningkat dan suhu rendah. Kondisi seperti ini sangat cocok untuk pertumbuhan khamir. Pertumbuhan khamir disini dapat memberikan sumbangan pada pengembangan tekstur dan flavor keju.

Jay *et al.*, (2005) menerangkan bahwa khamir dapat menyebabkan pembusukan pada keju cedar dan keju swiss. Khamir yang menyebabkan pembusukan pada keju olah adalah *D.hansenii*, dan dalam keju parmesan adalah *Kluy.marxianus*. Kerusakan utama yang ditimbulkan oleh khamir adalah timbulnya rasa *fruity*, *bitter*, *yeasty-off flavor* dan *gassy*. Apakah pertumbuhan yeast pada tahap maturasi dan tahap penjualan dapat menyebabkan kerusakan keju atau malahan dapat menguntungkan dari segi kualitas belum diketahui dengan pasti. Fermentasi lebih lanjut terhadap laktosa oleh khamir pada tahap maturasi dan penjualan dapat menyebabkan peningkatan keasaman, *gassines*, dan flavor *fruity*. Sementara itu hidrolisa lanjut terhadap protein dan lemak dapat memperlunak tekstur keju dan menghasilkan flavor pahit (*bitter*) dan tengik (*rancid*). Populasi sel khamir sebesar 10^6 hingga 10^7 sel/gram yang berkembang selama penyimpanan refrigerasi dapat menimbulkan kerusakan flavor dan aroma dan mengakibatkan timbulnya gas (Onishi, 1990).

Khamir dan pertumbuhannya berkaitan erat dengan keju jenis *semisoft*, mold-ripened cheese misalnya *Roquefort*, *Danish blue*, *Gorgonzola* dan *Stilton blue-veined cheese*, *camembert* dan *Brie cheese*. Keju dari jenis-jenis tersebut selama pemasaran sering terkontaminasi oleh khamir sampai pada populasi 10^6 sel/gram. Dadih keju jenis tersebut diinokulasi dengan *Penicillium roqurforti* atau dengan *P.camemberti* sesaat sebelum maturasi. Pertumbuhan kapang sering diikuti oleh pertumbuhan khamir alami yang terdapat selama maturasi dengan populasi maksimum mencapai 10^9 sel/gram (Fleet, 1990). Populasi campuran berbagai spesies baik yang bersifat oksidatif maupun fermentatif dapat tumbuh di dalam dadih dan di permukaan dadih. Kinetika pertumbuhan bervariasi menurut lokasi pertumbuhannya dalam dadih, jenis khamir, dan jenis keju. Khususnya, konsentrasi garam yang digunakan dalam pembuatan keju bervariasi antara 5-10% dan konsentrasi ini mempengaruhi pertumbuhan khamir (Fleet, 1990). *Brevibacterium linens* merupakan bakteri yang tumbuh

dominan dalam keju *Limburger* dan *Brick*. Bakteri ini akan tumbuh setelah pertumbuhan khamir dalam dadih dan pH dadih mencapai 5.7 yang disebabkan oleh metabolisme asam laktat oleh khamir.

Di bawah ini beberapa mekanisme mengapa pertumbuhan khamir mempengaruhi proses maturasi dan kualitas akhir produk.

1. Fermentasi laktosa yang terdapat dalam curd oleh khamir *Kluy. marxianus* menghasilkan metabolit sekunder dan CO₂ yang menyebabkan terbukanya tekstur dadih. Dalam keju *blue-vein*, terbukanya tekstur dan terjadinya aerasi dalam dadih sangat diperlukan karena kondisi ini mendorong pertumbuhan dan pembentukan serabut-serabut keju (*vein*) oleh *P. roqueforti*.
2. Penggunaan asam laktat merupakan konsekuensi pertumbuhan khamir dalam dadih. Aktivitas pembentukan asam laktat menurunkan keasaman dadih yang dapat menyumbangkan sifat sensori yang dikehendaki. Selain itu meningkatnya pH pada nilai tertentu dapat mendorong pertumbuhan bakteri yang berperan dalam proses maturasi. Perubahan pH dalam dadih juga mempengaruhi aktivitas enzim lipase dan protease yang dihasilkan oleh *Penicillium*.
3. Aktivitas enzim ekstraseluler protease dan lipase yang dihasilkan oleh beberapa spesies khamir misalnya *C. lipolytica* dapat merubah flavor dadih dan tekstur dadih.
4. Pembebasan produk-produk otolitik oleh khamir dapat mempengaruhi flavor sekaligus mendorong pertumbuhan bakteri.

Suatu hal yang perlu dipahami bahwa khamir yang berkembang selama maturasi merupakan berbagai jenis spesies liar yang tidak terkontrol. Sebagai akibatnya, beberapa spesies dapat memperbaiki kualitas keju, sebagian yang lain mungkin dapat menyebabkan kerusakan atau pembusukan. Jenis khamir *D. hansenii* dan *C. lipolytica* sering digunakan dalam proses maturasi keju.

5.2.3 Buah-buahan dan Sayuran

a. Buah-buahan Segar

Tumbuhnya miselium dan spora pada permukaan buah pada saat terjadi pembusukan mengindikasikan bahwa kapang adalah mikroorganisme yang bertanggung jawab terhadap pembusukan buah-buahan. Sebenarnya khamir sering ditemukan atau terdapat pada permukaan buah pada saat dipanen. Buah dengan kandungan gula tinggi dan pH rendah sangat disukai oleh khamir karena merupakan kondisi potensial untuk pertumbuhannya. Khamir umumnya terdapat pada permukaan buah segar paska pemanenan dengan populasi 10^3 sampai 10^5 sel/cm² (Johnson *et al.*, 1990). Khamir ini dianggap inaktif karena tidak memproduksi enzim selulolitik maupun pektinolitik yang sesuai untuk mendegradasi kulit buah dan menimbulkan infeksi. Walaupun demikian, kerusakan secara fisik pada kulit buah karena terlalu matang (*overripening*), luka secara mekanik, atau serangan kapang, menjadikan jaringan buah sebagai tempat pertumbuhan khamir dengan cepat. Buah yang rusak sering mengandung khamir dengan populasi 10^6 - 10^8 sel/gram. Peran aktif khamir dalam kerusakan/pembusukan buah sebagai berikut:

- a. Pembusukan yang bersifat fermentatif pada buah strawberi disebabkan oleh *Kloeckera apiculata*.
- b. Fermentasi tomat oleh *Hanseniaspora ovarum*, *K.apiculata* dan *Pichia kluyveri*.
- c. Pembusukan buah fig oleh khamir apiculata *C.stelata* dan *C.krusei*.
- d. *K.apiculata*, *P.fermentans* dan *P.kluyveri* berkaitan dengan kerusakan nekrotik jeruk.
- e. Pembusukan buah rhubarb oleh *Trichosporon cutaneum*.
- f. Pembusukan nanas oleh *Hanseniaspora guilliermondii* dan *C.guilliermondii*.
- g. Busuk asam buah anggur oleh *K.apiculata*, *C.krusei*, *Metschnikowia pulcherima*, *Saccharomycopsis crataegensis*.

Pembusukan pada buah segar penyimpanan beku dengan pengemasan *shrink-wrapping* dapat mendorong pertumbuhan khamir,

tetapi hal ini masih memerlukan studi yang lebih mendalam (Golden *et al.* 1987).

Penemuan terbaru yaitu berhasilnya diisolasi spesies khamir yang menghasilkan sifat antifungi dari buah. Khamir tersebut adalah *Cryp. laurentii*, *D.hansenii* dan *Candida sp.* Spesies khamir tersebut sedang diteliti potensialnya sebagai agensia biokontrol fungi pembusuk buah (Pitt and Hotcking, 1988).

b. Buah Olahan (Processed fruit)

Pembusukan oleh khamir merupakan masalah besar bagi industri yang mengolah buah-buahan. Produk hasil olah buah-buahan meliputi *fruit juice*, dan *fruit pulp concentrate*, *canned fruit*, *glaced fruit*, *ready-to-eat fruit slice* dan *fruit salad* (Bennion, 1980). *Carbonated soft drink* termasuk dalam industri ini karena produk minuman ini menggunakan bahan dasar konsentrat buah. Informasi tentang keberadaan dan pertumbuhan khamir dalam buah olah telah banyak diketahui, namun perkembangan industri pengolahan buah menuntut ilmuwan untuk terus mengembangkan penelitian tentang keberadaan khamir dalam produk-produk olahan baru. Perkembangan pengolahan buah ini meliputi penggunaan enzim dan filter membran dalam pengolahan buah, teknologi pengemasan buah, pengenalan produk baru buah iris (*sliced*) dan salad buah (*fruit salad*) *ready-to-eat*, dan permintaan konsumen yang meningkat pada pengolahan buah tanpa bahan pengawet. Selain itu buah olah digunakan sebagai ingredien dalam pengolahan komoditas lain, misalnya yogurt dan pie buah beku (*frozen fruit pie*). Produk yogurt buah dan pie buah beku mudah ditumbuhi khamir pembusuk.

Ekstrak buah segar akan segera melangsungkan proses fermentasi alkohol, kecuali bila ekstrak buah segar tersebut terhindar dari pertumbuhan khamir. Khamir ini berasal dari permukaan buah dan pencucian peralatan yang kurang bersih. Khamir ini bertanggung jawab pada pembusukan fermentasi jus buah, misalnya jus apel, anggur, dan jus orange. Khamir yang mengawali fermentasi dalam buah-buahan tersebut adalah *Kloeckera*, *Hanseniaspora*, *Candida*, dan *Hansenula*, tetapi selanjutnya

terjadi pertumbuhan cepat *Saccharomyces cerevisiae*. Populasi akhir khamir dalam jus buah adalah 10^7 - 10^9 sel/ml (Fleet and Mian, 1990). Penyimpanan jus pada suhu refrigerasi akan menghambat pembusukan oleh khamir tetapi tidak mencegahnya. Khamir pembusuk dalam jus yang disimpan pada suhu refrigerasi yaitu *Kloeckera*, dan *Candida*, karena khamir ini toleran terhadap alkohol dan pertumbuhannya semakin baik pada suhu refrigerasi. Penambahan bahan pengawet seperti sulfur dioksida, asam benzoat atau asam sorbat dikombinasikan dengan suhu refrigerasi akan meningkatkan masa simpan produk, tetapi juga ditemui pertumbuhan khamir pembusuk. Dalam kondisi tersebut khamir akan resisten terhadap bahan pengawet. Khamir *Zygosaccharomyces bailii* akan mendominasi penyebab pembusukan. Menurut Fleet dan Mian (tidak dipublikasikan) bahwa khamir sering ditemukan dalam dispenser jus buah outlet fast food. Dalam dispenser, populasi khamir mencapai 10^6 sel/ml dan didominasi oleh pertumbuhan *Zygosaccharomyces bailii*, *Sacch.cerevisiae* dan *Candida sake*.

Penyimpanan jus buah dan fruit pulp dalam bentuk konsentrat beku merupakan metode efektif untuk mengontrol pertumbuhan khamir pembusuk (Lowry and Gill, 1984). Konsentrasi gula dalam produk konsentrat mencapai 45° sampai 65° Brix, dikombinasikan dengan suhu penyimpanan dingin $<0^\circ\text{C}$, akan menghambat pertumbuhan khamir pembusuk. Akan tetapi, khamir akan tumbuh bila suhu penyimpanan naik diatas 5°C . Khamir yang tumbuh pada suhu diatas 5°C adalah khamir osmotoleran *Zygosacch.rouxii*, *Hanseniaspora valbyensis*, *C.krusei*, dan spesies *Candida* lain.

Pemanasan merupakan salah satu metode untuk mengontrol khamir pembusuk jus buah, jus konsentrat, dan soft drink oleh khamir. Beberapa faktor yang mempengaruhi resistensi khamir pembusuk terhadap pemanasan perlu dipertimbangkan. Selain suhu dan lama pemanasan, faktor-faktor yang secara signifikan mempengaruhi resistensi khamir pembusuk yaitu konsentrasi gula dalam produk, penggunaan preservatif, dan adanya askospora khamir yang resisten terhadap panas. Jenis khamir yang umumnya penyebab pembusukan pada fruit jus yang diproses

dengan pemanasan dan soft drink adalah *S.cerevisiae*, *Zygosacch.bailii*, *Candida* dan *Bretanomyces*.

Data mengenai keberadaan khamir dan pertumbuhan khamir dalam produk-produk olahan baru seperti *ready-to-eat* fruit salad, fruit slices, dan fruit peels sangat sedikit tersedia (Parish and Higgins, 1990). Akan tetapi sangat memungkinkan bahwa khamir menentukan kualitas dan masa simpan produk-produk tersebut.

c. Sayuran Segar dan Olahan

Informasi mengenai pembusukan sayuran oleh khamir belum banyak diketahui. Khamir merupakan mikroflora sayuran misalnya kubis, daun selada, biji jagung pipil, dan berbagai produk sayuran iris. Populasi khamir dalam produk tersebut biasanya cukup rendah yaitu 10^3 - 10^4 sel/gram, tetapi akan meningkat bila sayuran dalam bentuk irisan (Carlin *et al.*, 1990). Khamir dalam kubis mencapai populasi 10^8 sel/gram dan didominasi oleh *Cryp.albidus*, *Cryp.laurentii*, *Cryp.macerans*, dan *Sporobolomyces roseus*.

Kapang dan bakteri diduga sebagai mikroorganisme yang mengawali proses pembusukan sayuran, tetapi khamir juga mempunyai kontribusi yang signifikan dalam pembusukan tersebut. Pembusukan wortel rajangan siap pakai (*grated carrot*) disebabkan oleh kombinasi bakteri asam laktat dan khamir. Bawang merah busuk lunak disebabkan oleh bakteri *Erwinia carotovora* dan juga oleh khamir *Kluy.marxianus*. *Rhodotorula glutinis* adalah khamir yang potensial dalam pembusukan kacang kapri selama penyimpanan beku.

Metode pengemasan juga mempengaruhi jenis mikrobia pembusuk. Pengemasan dengan *shrink wrapping* dan *gas packaging* mendorong pertumbuhan khamir dan kapang selama penyimpanan beku sayuran cabe besar segar, tetapi mikroorganisme tersebut tidak tumbuh jika produk tanpa pengemasan. Khamir yang tumbuh aktif selama fermentasi sayuran dalam larutan garam misalnya fermentasi kubis, zaitun, dan acar. Walaupun bakteri asam laktat sebagai bakteri utama yang berperan dalam fermentasi, penggunaan garam dan menurunnya pH karena dihasilkannya asam laktat oleh bakteri asam laktat akan menciptakan kondisi bagi

pertumbuhan khamir selama fermentasi dan selama paska fermentasi. Khamir yang bersifat fermentatif akan tumbuh di bagian bawah larutan garam dan khamir yang bersifat oksidatif tumbuh pada permukaan. Kedua golongan khamir tersebut akan menghasilkan kerusakan flavor pada produk akhir. Selain itu khamir oksidatif akan menggunakan asam laktat sehingga meningkatkan pH dan keadaan ini akan menciptakan kondisi yang sesuai bagi pertumbuhan bakteri pembusuk. Indikasi lain pembusukan sayuran oleh khamir yaitu diskolorasi, pelunakan, pembentukan gas, dan penggelembungan oleh gas. Diskolorasi produk acar kubis menjadi berwarna pink disebabkan oleh *Rhodotorula*, sedang melunaknya tekstur disebabkan oleh enzim proteolitik yang dihasilkan oleh spesies *Debaryomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces*, dan *Rhodotorula*. Pembengkakan dan *blistering* dalam sayuran zaitun dan acar merupakan akibat dari produksi gas yang berlebihan oleh *Saccharomyces* dan *Hansenula sp.* Akan tetapi tidak semua jenis khamir yang tumbuh selama fermentasi sayuran akan menyebabkan pembusukan, beberapa jenis khamir mungkin berkontribusi terhadap kualitas produk (Fleet, 1992).

Salad sayuran siap makan atau *take away* salad seperti salad kentang (*coleslaw*) merupakan contoh produk yang mengalami pembusukan oleh khamir. Salad ritel sering mengandung khamir sebanyak 10^6 sel/gram atau bahkan lebih tinggi dan pembusukan produk ini diindikasikan dengan timbulnya *off-flavor*, *gassiness*, dan koloni khamir pada permukaan produk (Woolford, 1985). Produk mayonnaise yang digunakan untuk preparasi produk, mempunyai pH rendah yang dapat mendorong pertumbuhan khamir. Jenis khamir yang tumbuh selama penyimpanan salad suhu refrigerasi meliputi *Sacch.dairensis*, *Sacch.exigenus*, *P.membranaefaciens*, *C.sake*, *C.lambia*, *C.lipolytica*, dan *C.zeylanoides*.

5.2.4 Produk Pangan dengan Konsentrasi Gula atau Garam Tinggi

Makanan dengan konsentrasi gula tinggi (40-70%) meliputi sugarcane, sirup, madu, molase, maple syrup, ekstrak malt, fruit juice konsentrat, jam, jeli, permen, produk-produk confectionary, dan buah kering (Bennion,

1980). Produk-produk makanan tersebut bila telah terkontaminasi oleh khamir, kemudian tidak diolah dengan benar, dan disimpan, maka akan terjadi pembusukan fermentasi dan menghasilkan produk dengan indikasi aroma *estery fruity*, tekstur *gassy* dan *frothy* (Fleet and Mian, 1990). Contoh produk olahan yang mengalami pembusukan oleh khamir antara lain, bila produknya dikemas maka kemasan akan menggelembung dan pecah. Hanya ada satu jenis khamir yang tumbuh produk dengan konsentrasi gula tinggi dan a_w rendah ($a_w < 0.85$) yaitu *Zygosaccharomyces rouxii* dengan populasi mencapai 10^6 - 10^9 sel/gram (Tokuoka *et al.*, 1985). Beberapa jenis khamir osmotoleran yang berhasil diisolasi dari produk dengan karakter tersebut yaitu *Zygosacch.bailii*, *D.hansenii*, *Torulaspota delbrueckii*, *H.anomala*, dan *Schizosaccharomyces sp* (Jermini *et al.*, 1987).

Sebaliknya, hanya sedikit jenis khamir yang berhasil diisolasi dari makanan dengan konsentrasi garam tinggi. Lingkungan dengan konsentrasi garam tinggi (5-10%) terjadi selama fermentasi sayuran dalam larutan garam (*brine*), dan pada proses pembuatan keju (Jermini *et al.*, 1987). Khamir yang tumbuh dalam fermentasi soy sauce dan miso dengan konsentrasi garam 10-20% yaitu *Zygosacch. rouxii*, *D.hansenii*, *C.famata*, *Candida sp*, *Pichia sp* dan *Hansenula subpelliculosa*. Khamir juga berkaitan dengan penggaraman ikan tetapi studi taksonomi pada spesies yang diisolasi belum diketahui dengan jelas. Kondisi garam tinggi juga terdapat dalam bentuk fase cair proses pembuatan mentega dan mayonaise dengan konsentrasi garam 10-12% (Lenoir, 1984). Jenis khamir yang ditemukan dalam mentega yaitu jenis pembusuk yang bersifat lipolitik *Candida lipolytica*. Pembusuk salad dressing dan mayonaise yaitu *Zygosacch.bailii*. Selain toleran pada larutan konsentrasi gula dan garam tinggi, *Zygosacch bailii* juga toleran terhadap konsentrasi asam tinggi yang digunakan dalam pembuatan formulasi produk. Pembusukan pada saus tomat dan produk sejenis saus disebabkan oleh *Zygosacch.bailii*, *P.membranacefaciens*, dan *C.krusei*.

5.2.5 Biji-bijian dan Silase

Khamir dari genus *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, dan *Sporobolomyces* sering dapat diisolasi dari biji-bijian sebelum pemanenan (Fleet, 1992). Simbiosis komensalisme antara *Candida guilliermondii* dengan fungi *Fusarium moniliforme* dan kapang *Aspergillus flavus* ditemukan pada jagung busuk berjamur. Pembusukan biji-bijian selama penyimpanan paskapanen di dalam silo diawali ketika pengeringan biji tidak cukup atau bila biji dalam keadaan basah. Khamir pembusuk biji-bijian masih memerlukan penelitian lebih intensif. Ekologi mikroorganisme dalam barley khususnya perubahan mikrobiologi selama proses malting dalam pembuatan bir (Flannigan, 1987), diketahui bahwa selama proses *steeping* dan germinasi saat malting terdapat pertumbuhan khamir mencapai populasi 10^6 - 10^7 CFU/kernel, selain pertumbuhan bakteri. Spesies khamir yang mendominasi proses malting yaitu *Candida catenulata* dan *D.hansenii*, *Rhodotorula mucilaginosa*.

Dengan perkembangan isolasi dan identifikasi khamir, diketahui bahwa khamir berperan yang nyata dalam proses pembusukan silase biji-bijian untuk makanan ternak. Bakteri asam laktat khususnya bertanggung jawab untuk fermentasi silase, namun khamir fermentatif juga tumbuh mencapai populasi 10^7 CFU /gram selama fase awal (Fleet, 1992). Selanjutnya populasinya menurun dan stabil pada 10^5 CFU /gram selama beberapa bulan.

Suatu hal yang perlu dipertimbangkan bahwa khamir berkompetisi dengan bakteri asam laktat untuk menggunakan substrat bagi pertumbuhannya selama fermentasi. Akan tetapi tampaknya pertumbuhan bakteri lebih baik karena adanya produksi vitamin oleh khamir. Fermentasi silase yang terlalu terekspose ke udara atau sangat aerobik akan mengaktifkan pertumbuhan khamir dan menimbulkan kerusakan pada kualitas produk. Oleh karena dalam kondisi oksigen berlebih khamir memetabolisme asam laktat dan asam asetat sebagai asam utama yang diproduksi oleh fermentasi silase, akibatnya meningkatkan pH dan mendorong pertumbuhan bakteri pembusuk. Jenis khamir yang ikut serta dalam fermentasi silase tergantung pada bahan mentah silase. Dalam hal

silase jagung, spesies yang mendominasi pada tahap fermentasi dan pembusukan adalah *Candida holmii*, *C. milleri*, *C. krusei*, *C. lambica*, *C. famata*, *H. anomala*, *Sacch. dairensis*, dan *Sacch. exiguus*. Sedangkan pada silase gandum jenis khamir yang berkaitan dengan pembusukan secara aerobik adalah *Endomycopsis burtonii*, *E. selenospora*, *Hansenula canadensis*, dan pada silase rumput-rumputan (misalnya alfafa) adalah *Candida tenuis*, dan *Candida salvicola* (Woolford, 1985).

5.2.6 Berbagai Produk Fermentasi

Produk fermentasi yang dihasilkan secara tradisional berlangsung oleh aktivitas pertumbuhan mikroorganisme indigenus yang tidak terkontrol. Pertumbuhan khamir yang berlebih selama fermentasi dan pertumbuhan spesies yang tidak dikehendaki selama fermentasi akan mempengaruhi kualitas produk. Berikut ini suatu contoh pertumbuhan dan peranan khamir dalam fermentasi beberapa jenis makanan.

Biji coklat perlu melalui proses fermentasi sebelum menjadi coklat. Fermentasi sangat menentukan karakteristik sensori coklat yang akan dihasilkan. Diantara mikroorganisme yang ikut serta dalam fermentasi biji coklat, khamir berperan utama dalam fermentasi dan mencapai populasi 10^6 - 10^8 CFU /gram selama fase inisial. Jenis khamir yang tumbuh selama fase inisial yaitu *Kloeckera*, *Hansenula*, *Candida*, *Sacharomyces* dan *Pichia sp* (Onishi, 1990). Khamir pektinolitik sangat mungkin berperan dalam fermentasi biji kopi, walaupun pengaruhnya terhadap kualitas kopi belum maksimal. Fermentasi nasi, ubi kayu, jagung, dan sayuran, sangat penting dalam kaitannya dengan makanan (*diet*) masyarakat Asia dan Afrika, dan akhir-akhir ini telah berkembang penelitian mengenai peranan khamir yang berkaitan dengan kualitas, karakteristik sensori dan daya terima konsumen terhadap makanan produk fermentasi.

5.3 Kontrol Terhadap Pembusukan Makanan oleh Khamir

Khamir adalah organisme yang terdapat dimana-mana, dengan sifat ini maka sangat memungkinkan bila khamir akan berada dalam berbagai produk makanan. Pencegahan terhadap pembusukan yang disebabkan oleh khamir memerlukan pelaksanaan pengolahan yang baik (*good manufacturing practices /GMP*) dan penerapan *prinsip hazard analysis critical control point (HACCP)* dan program manajemen kualitas yang lain. Karena khamir mudah tumbuh pada suhu rendah, maka penyimpanan dalam suhu refrigerasi tidak mencegah pembusukan oleh khamir, tetapi hanya memperlambat proses kerusakan.

Pencegahan dan mengurangi penyebab kontaminasi merupakan kunci dalam manajemen pembusukan oleh khamir. Perlu ditekankan lebih dahulu bahwa bumbu-bumbu yang akan dipakai dalam adonan makanan seperti daging buah, flavor, gula sirup, gula, dan garam, dikatakan tidak terkontaminasi oleh khamir bila berpedoman pada, dan mengikuti prosedur standar spesifikasi deteksi khamir (bahwa khamir tidak terdeteksi dalam sample 1-10 gram) (Jay *et al.*, 2005). Bila perlu dianjurkan untuk memanaskan lebih dahulu bumbu-bumbu sebelum digunakan dalam adonan makanan untuk membunuh kontaminasi, menghindari makanan dari serangga seperti lalat buah karena hewan ini merupakan sumber kontaminasi khamir, dan membersihkan, mencuci dan sanitasi harus dilakukan dengan benar. Bahan-bahan pengawet seperti bensoat, asam sorbat, dan sulfur dioksida dapat digunakan untuk mengontrol pertumbuhan khamir pembusuk, tetapi beberapa spesies khamir *Zygosaccharomyces bailii* dapat tumbuh dengan baik dalam makanan yang mengandung bahan pengawet tersebut pada konsentrasi maksimum yang diperlukan sesuai standar (Wart, 1989). Oleh karena itu pengujian secara rutin dengan mengikuti prosedur standar perlu dilakukan untuk memonitoring pembusukan oleh khamir. Kontrol pembusukan oleh khamir dapat dilakukan dengan beberapa sebagai berikut.

Spesies khamir yang dapat tumbuh dengan baik dalam makanan yang mengandung bahan pengawet tersebut pada konsentrasi maksimum yang diperlukan sesuai standar (Wart, 1989). Oleh karena itu pengujian secara rutin dengan mengikuti prosedur standar perlu dilakukan untuk memonitoring pembusukan oleh khamir. Kontrol pembusukan oleh khamir dapat dilakukan dengan beberapa sebagai berikut.

5.3.1 Inaktivasi dengan Pemanasan

Kejadian luar biasa (*outbreak*) khamir pembusuk dalam produk minuman yang diolah dengan pemanasan seperti soft drink, fruit jus, fruit konsentrat, sirup, dan bir mempunyai kaitan dengan kematian atau resistensi khamir terhadap pemanasan. Kurva kematian panas dan *Decimal reduction (D)* value untuk jenis-jenis khamir *Sacch.cerevisiae*, *Zygosacch.rouxii*, *Zygosacch.bailii*, *H.anomala*, *D.hansenii*, *P.membranafaciens*, *Kluy.marxianus*, *Kluy.apiculata*, *C.krusei*, *C.lambia*, *Brettanomyces anomalus* telah dipublikasi. Dalam kondisi normal, sel vegetatif khamir tersebut di atas sangat cepat inaktif pada suhu 60-65°C (Pitt and Hotching, 1988). Nilai $D_{60^\circ\text{C}}$ dari *Sacch. cerevisiae*, *Zygosacch. bailii* dan *Zygosacch. rouxii* terletak pada kisaran 0.1-0.4 menit (Jay *et al.*, 2005). Tetapi, nilai- D kebanyakan spesies khamir dipengaruhi secara nyata oleh beberapa faktor lingkungan. Sel khamir sangat sensitif atau mudah rusak oleh pemanasan dan adanya bahan pengawet (sodium benzoat, potasium sorbat, sulfur dioksida), zat antioksidan, asam organik, etanol, dan pH rendah. Sebaliknya sel khamir resisten ketika dipanaskan dalam lingkungan/substrat mengandung konsentrasi gula tinggi (30-60%) atau garam tinggi (10-20%). Nilai D untuk *Zygosacch.bailii* dan *Zygosacch.rouxii* dapat meningkat dari ,0.1 menit dalam konsentrasi gula 3% menjadi >2.5 -10 menit dalam konsentrasi gula 60%, dan tergantung pada nilai pH substrat (Schmid *et al.*, 2001). Khamir penghasil askospora lebih resisten terhadap panas dari pada khamir bukan penghasil askospora. Nilai D_{60° askospora *S.cerevisiae* adalah 50-150 kali lipat lebih tinggi dari pada nilai D_{60° sel vegetatifnya. Pemahaman resistensi panas dan nilai D sangat penting terutama jika akan mendesign perlakuan panas suatu produk dengan atau tanpa kandungan gula tinggi misalnya fruit konsentrat, soft drink, atau sirup, yang disertai dengan penambahan zat antioksidan atau pengawet.

5.3.1 Penggunaan Bahan Pengawet dan Antimikrobia

Sepanjang diizinkan dalam peraturan tentang pangan, bahan pengawet diperbolehkan ditambahkan ke dalam makanan dan minuman untuk mengontrol pertumbuhan khamir. Akan tetapi makanan dan minuman

yang ditambah bahan pengawet mudah mengalami pembusukan oleh khamir yang tahan terhadap bahan pengawet. Masalah ini sering terjadi pada produk soft drink, fruit juice, fruit konsentrat, sirup, salad dresing, mayonaise, saus tomat dan wine. Bahan pengawet yang sering digunakan adalah asam bensoat, asam sorbat, asam asetat dan sulfur dioksida. Jenis khamir yang resisten terhadap bahan pengawet tersebut adalah *Zygosacch. bailii*, *Zygosacch. rouxii*, *Zygosacch. bisporus*, *C. krusei*, *P. membranaefaciens* dan *Schizosacch. Pombe* (Fleet, 1992). Tabel 18 menyajikan bahan pengawet yang sering digunakan untuk mengontrol khamir pembusuk beserta konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhannya. Menurut data tersebut *Zygosacch. bailii* merupakan khamir paling resisten terhadap bahan pengawet. Konsentrasi minimum bahan pengawet yang dapat menghambat pertumbuhan khamir dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan dan pH merupakan faktor paling penting. Bahan pengawet mempunyai pengaruh yang besar pada kisaran pH substrat rendah yaitu 3.0-4.0, karena pada kondisi ini asam atau sulfur dioksida dalam bentuk undisosiasi. Dalam bentuk undisosiasi ini suatu molekul akan mudah masuk kedalam sel. Oleh karena itu pada pH 3.0 ini pertumbuhan *Zygosacch. bailii* terhambat oleh sodim bensoat pada konsentrasi 1500 mg/L, sedangkan pada pH 4.8 memerlukan konsentrasi sebesar 4500 mg/l untuk dapat menghambat. Menurut Cole dan Keenan (1986), konsentrasi molekul asam undisosiasi bukan hanya satu-satunya faktor yang mempengaruhi tetapi juga interaksi sinergis antara pH dengan bahan pengawet asam. Substrat mengandung gula dan a_w rendah pada makanan dengan konsentrasi gula tinggi mungkin dapat meningkatkan atau menurunkan toleransi khamir terhadap pengawet. Adanya etanol dapat memperbesar pengaruh asam sorbat terhadap *Zygosacch. bisporus* dan *S. cerevisiae*. Jenis asam meliputi asam sitrat, malat, dan laktat yang terdapat alami dalam pangan atau ditambahkan sebagai pengasam dapat juga berpengaruh pada toleransi khamir terhadap pengawet.

Daya adaptasi khamir terhadap bahan pengawet tertentu misalnya sodium bensoat akan meningkat, misalnya daya adaptasi *S. cerevisiae* untuk tumbuh dalam substrat yang mengandung sodium bensoat meningkatkan

toleransi dari 100 menjadi 175 mg/l, sedangkan adaptasi *Zygosacch.bailii* meningkat toleransinya dari 600 menjadi 1300 mg/l.

Selain itu askospora khamir lebih resisten terhadap bahan pengawet dibanding sel vegetatifnya. Mengapa khamir *Zygosacch.bailii* lebih toleran terhadap bahan pengawet dari pada *S.cerevisiae*, Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada saat memasuki sel, asam undisosiasi akan terdisosiasi menjadi anion dan proton karena pH intraseluler netral. Akumulasi anion intraseluler dan pengasaman yang disebabkan oleh adanya produksi proton selanjutnya menghambat metabolisme dalam sel.

Tabel 5.3 Konsentrasi Minimum Bahan Pengawet yang Diperlukan untuk Menghambat Pertumbuhan Khamir Pembusuk

Jenis khamir	Asam Benzoat (mg/L)	Asam Sorbat (mg/L)	Asam Asetat (g/L)	Asam Propionat (g/L)	Asam dioksida (mg/L)
<i>Zygosacch.bailii</i>	600-1300	600-	25	15	200
<i>Zygosacch.rouxii</i>	200-330	1200	9	3	-
<i>Candida krusei</i>	300-440	500-	15	8	75
<i>Pichia membranifaciens</i>	200	1200	20	-	-
<i>Schizosacch.pombe</i>	300-600	300	16	10	125
<i>Sacch.cerevisiae</i>	100-175	600	10	6	75-100
<i>Hansenula anomala</i>	140-225	200	6	4	50-75
<i>Kloeckera apiculata</i>	125-190	600	6	3	7
<i>Kluy.marxianus</i>	125-175	200	6	3	50
<i>Rhodotorula rubra</i>	100	150	<1	-	-
<i>Brett.intermedius</i>	300	<100	-	-	-
		400			

Sumber: Fleet (1992)

Khamir resisten terhadap bahan pengawet seperti *Zygosacch.bailii* memiliki sistem yang mengeluarkan anion dan proton keluar sel, akibatnya mencegah akumulasi intraseluler. Selain itu sel khamir *Zygosacch.bailii* mempunyai mekanisme sel yang mencegah masuknya bahan pengawet ke dalam sel.

Penggunaan sulfur dioksida sebagai pengawet telah banyak diiskusikan. Dalam bentuk cair, sulfur dioksida mempunyai tiga bentuk yaitu molekul sulfur dioksida, sulfit, dan bisulfit. Molekul sulfur dioksida adalah bentuk yang mempunyai sifat antimikrobia karena mudah masuk ke dalam sel. Bentuk anion sulfit dan bisulfit mempunyai tendensi yang kuat untuk membentuk ikatan reversibel dengan senyawa karbonil (gula, asetaldehid) yang terdapat dalam makanan, sehingga mengurangi konsentrasi molekul sulfur dioksida. Konsekuensinya, perlu ditambahkan konsentrasi sulfur dioksida lebih tinggi ($>200\text{mg/l}$) dalam makanan untuk mencapai molekul sulfur dioksida yang cukup ($1\text{-}2\text{ mg/l}$) agar dapat berfungsi sebagai antimikrobia (Fleet, 1992). Karbon dioksida merupakan produk akhir metabolisme pertumbuhan khamir dan mikroba lain, tetapi karena bentuknya dalam gas dan akan keluar lingkungan maka fungsinya sering diabaikan. CO_2 larut dalam fase cair sistem makanan dan juga larut dalam komponen organik seperti etanol untuk membentuk asam karbonat.

RINGKASAN

Khamir tidak membahayakan manusia karena berperanan dalam pembuatan produk fermentasi lain, tetapi khamir juga mempunyai efek merugikan karena dapat menyebabkan alergi pada beberapa individu dan menyebabkan pembusukan makanan. Pembusukan ini ditandai dengan perubahan flavor, bau, tekture, dan penampakan suatu produk. Khamir dapat menyebabkan pembusukan pada makanan dan minuman. Populasi khamir dalam daging giling dan daging potong sekitar $10^2\text{-}10^7$ sel/gram dan mudah berkembang biak dalam daging potong yang disimpan pada suhu refrigerasi mencapai populasinya $10^6\text{-}10^7$ sel/gram. Pengemasan dalam atmosfer terkendali dengan CO_2 dan bukan dengan nitrogen dapat menghambat pertumbuhan khamir dalam daging segar. Populasi khamir dalam susu segar dan susu pasturisasi $<10^3$ sel/ml, dan sangat jarang tumbuh pada penyimpanan suhu refrigerasi. Kerusakan terjadi pada susu kental manis yang ditandai dengan produksi gas. Khamir lipolitik dapat membusukkan produk susu tinggi lemak. Sebenarnya khamir tidak menyebabkan pembusukan pada yogurt, tetapi yogurt dapat terkontaminasi oleh khamir yang dibawa oleh bahan-bahan tambahan

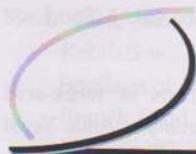
yang digunakan di dalam pembuatan yogurt. Pembusukan yogurt terjadi bila populasi khamir mencapai 10^6 - 10^7 sel/gram, dan ditandai oleh penggelembungan kemasan karena produksi gas oleh fermentasi khamir. Pada keju khamir tumbuh sebagai kontaminan alami didalam curd selama tahap maturasi. Khamir ditemukan pada permukaan buah segar paska pemanenan dengan populasi 10^3 sampai 10^5 sel/cm². Khamir ini dianggap inaktif dan akan menyebabkan pembusukan bila khamir tumbuh dalam buah dan sayuran yang telah mengalami kerusakan fisik dan buah rusak akan mengandung khamir dengan populasi 10^6 - 10^8 sel/gram. Khamir ini berasal dari permukaan buah dan pencucian peralatan yang kurang bersih dapat menyebabkan pembusukan pada buah olah. Khamir merupakan mikroflora yang sering terdapat dalam sayuran dengan populasi rendah, tetapi bila sayuran mengalami pengolahan dengan pengirisan maka khamir akan tumbuh cepat dan dapat menyebabkan pembusukan. Produk makanan berkadar gula tinggi akan mengalami kerusakan oleh khamir yang mengkontaminasi peralatan pengolahan. Hanya khamir lipolitik yang kemungkinan menyebabkan pembusukan pada makanan berkadar garam tinggi misalnya mentega. Pembusukan biji-bijian selama penyimpanan paskapanen di dalam silo terjadi jika pengeringan biji tidak cukup atau bila biji dalam keadaan basah. Pembusukan yang terjadi pada produk makanan fermentasi tradisional disebabkan oleh pertumbuhan khamir liar yang tidak mempunyai kontribusi dalam proses fermentasi. Berbagai cara untuk mengontrol pertumbuhan khamir pembusuka yaitu inaktivasi dengan pemanasan dan penggunaan bahan pengawet atau bahan antimikroba.

Stover, A. D., 1981. Compatible solutes and cellular water activity in osmotic microorganisms. *Journal of Food Science*, 52:100-101

-0000-

Frank, H.J., DeLuca, P.M., and Combs, T.J., 1972. Occurrence of human-associated yeast in bivalve shellfish from Long Island Sound. *Appl. Environ. Microbiol.* 33:370.

Carlin, F., Nguyen-The, C., Chambuy, Y., and Reich, M., 1990. Effects of control atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and



DAFTAR PUSTAKA

- Barners, E.M., Impey, C.S., Geeson, J.D., and Buhagiar, R.W.H., 1978. The effect of storage temperature on the shelf life of eviscerated air-chilled turkeys. *Br.,Poult. Sci.*, (191):77.
- Barnett, J., R.W. Payne dan D. Yarrow. 2000. *Yeast: Characteristics and Identification*, 3rd edition, Cambridge University Press, Cambridge.
- Bennion, Marion., 1980. *The Science of Food*, Harper and Row, Publisher San Francisco, pp311-312.
- Beuchat, L.R. 1993. Selective media for detecting and enumeration foodborne yeast. *Int. J.Food Microbiol.* 19:1-4.
- Biotechnology.* 12:1-44.
- Brown, A. D., 1990. Compatible solutes and extreme water stress in eukaryotic microorganisms, *Adv. Microbiol. Physiol.*, 17:181-190.
- Buck, J.D., Bubucis, P.M/. and Combs, T.J., 1977. Occurrence of human-associated yeast in bivalve shellfish from Long Island Sound. *Appl. Environ.Microbiol.* (33):370.
- Carlin, F., Nguyen-The,C., Chambury,Y., and Reich, M. 1990. Effects of control atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and

- sugar content of fresh ready to use grated carrots. *Int. J. Food sci. technol* (25):110.
- Cole, M.B., and Keenan, M.H.J., 1986. Synergistic effects of weak-acid preservatives and pH on the growth of *Zygosaccharomyces bailii*. *Yeast* (2):93.
- Dalton, H.K., Board, R.G., and Davenport, R.R., 1984. The yeasts of British fresh sausage and minced beef. *J. Microbiol. Serol., Antonie van Leeuwenhook* (50):227.
- De Boek, E., and Kuik, D., 1987. A survey of the microbiological quality of the blue-veined cheese. *Neth. Milk Dairy technol* (41):227.
- Deak, T. 1991. Foodborne yeast. *Ads Appl Microbiol* 36:179-278
- Deak, T. 1995. Methods for the Rapid Detection and identification of yeasts in foods. *Trends in Food Science and Technology* 6:287-292.
- Fell, J.W., Boekhout, T., Fonseca, A., Scorzetti, G., Stutzell-Talman, A. 2000. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large subunit D1/D2 domain sequence analysis. *Inter. Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50:1351-1371.
- Flanigan, B., 1987. The microflora of barley and malt in *Brewing Microbiology*, Priest, F.G., and Campbell, I., Eds., Elsevier, London., 83.
- Fleet G.H., 1999. Microorganisms in Food Ecosystems in *Int. J. Food Microbiol.* 50, 101-107.
- Fleet, G.H. 1990. Yeasts in dairy products-a review. *J. Appl Bacteriol.* 68:199-211.
- Fleet, G.H. 1992. Spoilage yeasts. *Crit Rev Biotechnol* 12: 1-44.
- Fleet, G.H. 2006. *The Yeast Handbook*. Amparo Querol, Graham H. Fleet (Eds): *Yeasts in Food and Beverages*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Chapter 1.

- Fleet, G.H., and W. Praphailong., 2005. Yeasts. In: C.J. Moir., C.A-Kabilafkas., G.Arnold., B.M.Cox., A.D. Hocking., I. Jenson., (Eds), Spoilage of Processed Foods:Causes and Diagnosis. AIFST Inc. NSW Branch Food Microbiology group. PO Box 1303, Waterloo DC NSW 2017.PP 383-399.
- Fleet, G.H., 1990. Food spoilage yeasts. In Yeast Technology. Spencer,J.F.T., and Spencer,D.M., Eds., Springer-Verleg., Berlin. P 124
- Fleet, G.H., 1992. Soilage yeasts. Critical Reviews in Biotechnol.(12(1/2):1-44.
- Fleet, G.H., and Mian, M.A., 1987. The occurrence and growth of yeasts in dairy products, Int.J. Food Microbiol. (4):145.
- Fuller, R. 1992. Probiotics the Scientific Basis. Chapman & Hall. The University Press Cambride.
- Golden *et al.* 1987. Effects of chemical treatments on microbiological, sensory and physical qualities of individually shrink-rapped produces. J. Food Protect. (50):673
- Grazia, L., Suzzi, G., Romano,P., and Giodici, P. 1989. The yeasts in meat products. Yeasts (5):S495.
- Green, M.D., and Ibe, S.N., 1987. Yeasts as primary contaminants in yogurt produced commercially in Lagos. Nigeria. J. Food Protech. 950):193.
- Guan J. and Bruner J.R. 1987. Koumiss produced from skim milk sweet whey blend. Cultured Dairy Journal, 22(1): 23.
- Hsieh, D.Y., and Jay, J.M. 1984. Characterization and identification of yeasts from fresh and spoiled ground beef. Int.J. Food Microbiol., 93):141.
- Jay, J., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. Modern Food Microbiology, seventh ed., Springer, USA, pp 101-118.
- Jay, J., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. Modern Food Microbiology, seventh ed., Springer, USA, pp 415-433.

- Jermini, M.F.G., Geigers, O., and Schimdt-Lorenz, W.M., 1987. Detection isolation and identification of osmotolerant yeasts from high-sugar products. *J. Food Protect.* (50):468.
- Johnson, D.A., Regner, K.M., and Lunden, J.D. 1989. Yeast soft rot of onion in the Walla valley of Washington. *Plant Dis.* (73):686.
- Kallmeyer, Moritz., 2005. Yeast Autolysis. Chief Brewer Drayman's Microbrewery, Silverton Pretoria, March 2005.
- Kurtzman, C.P. and J.W. Fell. 1998. The yeast. A Taxonomic Study, 4th edition, Elsevier, Amsterdam.
- Kurtzman, C.P., and Robnett, C.J., 1998. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie Van Leeuwenhoek* 78:331-371.
- Lenoir, J. 1984. The surface flora and its role in the ripening of cheese. *Int. J. Dairy Fed. Bull.* (171):3.
- Lodder J. 1970. *The Yeast: A Taxonomi Study*, North Holland Publishing Co.
- Lowry, P.D., and Gill, C.O., 1984. Development of yeast microflora on frozen lamb stored at -5°C. *J. Food Protect.* (47):309.
- Mambetaliev B.D., 1990. Production of Koumiss. USSR Patent. SU 1: 544, 341.
- Mian, M.A., Fleet, G.H., Hocking, A.D., 1997. Effect of diluent type on viability of yeasts enumerated from foods or pure culture. *Inten. Journal of Food Microbiology.* 35:103-107.
- Onishi, H. 1990. Yeasts in fermented foods. In, Spencer, J.F.T., and Spencer, D.M., (Eds.), *Yeast Technology*. Springer-Verlag, Berlin. P 167.
- Parish, M.E and Higgins, D.P., 1990. Investigation of the microbial ecology of commercial grapefruit sections. *J. Food Protech.*, (53):685.
- Pitt, J.I., and Hocking, A.H., 1997. *Fungi and Food Spoilage*, second edition, Blackie Academic & Professional, London.

- Pitt, J.I., and Hotchkiss, A.D. 1988. Problem with preservative resistant yeasts. *Microbiol. Aliment. Nutr.* (6):19.
- Praphailong, W. 1996. Growth, metabolic and ultrastructural properties of food spoilage yeasts cultured under different environmental conditions. PhD Thesis, Department of Food Science and Technology, The University of New South Wales, Sydney NSW, Australia.
- Praphailong, W. and G.H. Fleet. 1997. The effect of pH, sodium chloride, sucrose, sorbate and benzoate on the growth of spoilage yeast. *Food Microbiol.*, 14:459-468.
- Publishing Co.
- Reed, G., and Nagodawithana, T.W., 1991. Technology of yeast usage in winemaking., *Am.J.Enol.Vitic.*, 39:83.
- Roostita R. 1993. Occurrence, Growth and Biochemical Properties of Yeasts in Cheeses and Milk. A Thesis, The University of New South Wales, Australia.
- Roostita R. and Fleet G.H. 1996. Growth of Yeasts in Milk and Associated Changes to milk Composition. *International Journal of Food Microbiology* 31: 205-219.
- Rose, A.H., and Harrison, J.S., 1993. The Yeasts, second edition, Vol. 5, Yeast Technology, Academic Press, London.
- Schmid, A., Dordick, J. S., Hauer, B., Kiener, A., Wubbolts, M. & Witholt, B. 2001. Industrial biocatalysis today and tomorrow. *Nature* 409: 258-268.
- Siward, R.F., Lee, B.H., Laley, C.L. and Holley, F.J. 1983. Effects of temperature, light and storage time on the microflora of vacuum or nitrogen-packed frankfurters. *J. Food Protect.* (46):199.
- Spencer, J.F.T., and Spencer, D.M., 1990. Yeast Technology., Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- Surajudin, Fauzi R. Kusuma, Dwi Purnomo., 2005. Yoghurt: *Susu Fermentasi yang Menyehatkan*, Jakarta: AgroMedia Pustaka.

- Tudor, E.A., Board, R.G., 1993. Foods Spoilage Yeasts, In: Rose, A.H., Horrison, J.S., (Eds), The Yeast second edition volume 5. Yeast Technology. Academic Press, London. Pp 435-516.
- Walker, G.M., 1998. Yeasts physiology and biotechnology. John Wiley and Sons, Chichester.
- Walker, H.W. and Ayres, J.C. 1970. Yeasts as spoilage organisms. In Rose, A.H., and Harrison, J.S., (Eds.). *The Yeast Vol 3, Yeast Technology*, Academic Press., London. P 463.
- Wart, A.D. 1989. Transport of benzoic and propanoic acids by *Zygosaccharomyces bailii*. *J. Gen. Microbiol* (135):1383.
- Wirahadikusumah, 1985. Biokimia Pangan, Institute Pertanian Bogor.
- Woolford, M.K., 1985. The silage fermentation, in *Microbiology of fermented foods*. Vol 2, Wood, B.J.B., eds., Elsevier., London p 85.

-oo0oo-

Signifikansi Khamir Dalam Pangan

Metode bacterial-like catalase adalah aplikasi penelitian untuk menghitung jumlah mikroba pembusuk pada makanan segar dan terfermentasi, aplikasi khamir dalam pengolahan produk pangan pada tempe, tapioca, kakao, dan ekstrak kelopak bunga Rosela serta teknik pengolahan pangan menggunakan high pressure carbon dioxide.

Buku ini memberikan pengertian dasar mengenai khamir yang perlu dipahami oleh pembaca yang khususnya mempelajari mikrobiologi pangan, mikrobiologi industri dan teknologi pangan. Buku ini juga dapat digunakan sebagai buku ajar pada mata kuliah yang berkaitan dengan mikrobiologi.



Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., adalah dosen di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Ia telah menyelesaikan pendidikan S-3 bidang Teknologi Industri Pertanian di Universitas Sriwijaya Palembang dan bidang Food Microbiology di New South Wales University Sydney Australia (2014). Pendidikan S-2 tahun 1991 di Kansas State University Mahattan Kansas Amerika Serikat di bidang Food Microbiology setelah menyelesaikan pendidikan Sarjana S-1 di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta bidang kajian Endokrinologi-Histologi.

www.plantaxia.com

Diterbitkan Atas Kerjasama dengan



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT, UNIVERSITAS LAMPUNG



U 3518