

The Antioxidant Growth and Potency of Yeast *Rhodospiridium paludigenum* DUCC Y-007 on Different Mediums

Endang Kusdiyantini^{1,*}, Anto Budiharjo¹

¹Biology Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University

Jl. Prof. H. Soedarto, SH. Tembalang-Semarang 50275 Indonesia. Telp./Fax.: 024 76480923.

*Corresponding author's email: kusdiyantini@undip.ac.id

ABSTRACT

The antioxidant growth and potency of yeast *Rhodospiridium paludigenum* DUCC Y-007 have been studied on two treatment mediums. The yeast could grow on two treatment mediums and the dry weight results obtained during the incubation period of 120 hours were 7.17 g/L and 7.33 g/L. The concentration of reducing sugars in stabilized medium were 3.14 g/L and 3.30 g/L at 72-120 hours incubation time respectively. There were differences in pH changes during incubation time which at YPG medium, it tended to increase whereas at semi synthetic medium, the pH tended to decline. Total carotenoid on YPG medium was 50.13 µg/g cell and on the semi-synthetic medium was 197.50 µg/g cell. Antioxidant activity measured by DPPH reagent showed the results at YPG medium was 50% and at semi-synthetic medium was 61%.

Keywords: yeast, Rhodospiridium paludigenum DUCC Y-007, growth, antioxidant, medium.

ABSTRAK

Pertumbuhan dan potensi antioksidan khamir *Rhodospiridium paludigenum* DUCC Y-007 telah dikaji terhadap dua medium perlakuan. Khamir ini dapat tumbuh pada dua perlakuan medium dan hasil berat kering sel yang diperoleh selama waktu inkubasi 120 jam adalah 7,17 g/L dan 7,33 g/L. Konsentrasi gula reduksi dalam medium stabil dengan nilai 3,14 g/L dan 3,30 g/L pada waktu inkubasi 72 jam – 120 jam. Terdapat perbedaan perubahan pH selama waktu inkubasi, untuk medium YPG cenderung meningkat dibanding medium semi sintetik yang cenderung menurun. Karotenoid total pada medium YPG sebesar 50,13 µg/g sel dan pada medium semi sintetik sebesar 197,50 µg/g sel. Aktivitas antioksidan yang diukur dengan reagen DPPH menunjukkan hasil pada medium YPG sebesar 50% dan medium semi sintetik 61%.

Kata kunci: khamir, Rhodospiridium paludigenum DUCC Y-007, pertumbuhan, antioksidan, medium.

Pendahuluan

Karotenoid merupakan pigmen yang banyak terdapat di alam dan mempunyai kemampuan dalam sistem biologi, seperti sistem imun, karena sifatnya sebagai antioksidan [1, 2]. Karena sifat dan fungsinya ini karotenoid banyak digunakan di berbagai bidang, seperti bidang pangan, farmasi, kesehatan dan kosmetik. Seiring meningkatnya penggunaan karotenoid, maka konsumen lebih memilih karotenoid alami dibanding sintetik. Selama ini, pigmen alami yang digunakan pada industri banyak diekstrak dari tanaman, seperti akar beet untuk

mendapatkan antosianin, betalain. Beberapa pewarna pangan juga dihasilkan oleh mikroorganisme, misalnya: kapang *Monascus* sp. untuk industri pangan [3], astaxanthin dari *Phaffia rhodozyma*, *Haematococcus pluvialis* untuk akuakultur [4, 5].

Untuk pemenuhan akan meningkatnya permintaan konsumen akan karotenoid, maka perhatian tentang senyawa ini difokuskan pada produksi karotenoid alami dengan teknologi mikrobial menggunakan khamir dan bakteri. Sejauh ini, khamir yang sudah banyak dieksplorasi karotenoidnya adalah *Rhodotorula* sp. dengan β-karotenoid dan

torularhodinnya [6] dan *Phaffia rhodozyma* dengan astaxanthinnya [7, 8]. Dewasa ini, berbagai penelitian difokuskan terhadap pengaruh kondisi fermentasi untuk optimasi produksi karotenoid, seperti pengaruh medium [9], pengaruh sumber nitrogen [10].

Khamir *Rhodospiridium paludigenum* DUCC Y-007 indigenous berhasil diisolasi dari rhizosfer umbi bunga dahlia di daerah Bandungan, Semarang, Jawa Tengah. Dari identifikasi menggunakan KLT dan UV tampak maka terlihat bahwa mayoritas karotenoid yang ada pada khamir *R. paludigenum* DUCC Y-007 adalah: ξ -Karoten, β 1-Zeakaroten, γ -Karoten, Torulen, dan Torularhodin. Medium merupakan salah satu faktor penting untuk pertumbuhan dan produksi senyawa metabolit oleh khamir. Aktivitas antioksidan seringkali digunakan untuk mengetahui kualitas dari karotenoid yang dihasilkan oleh khamir. Penelitian ini mengkaji pertumbuhan dan aktivitas antioksidan *R. paludigenum* DUCC Y-007 tersebut pada medium yang berbeda.

Metodologi

Mikroorganisme:

Rhodospiridium paludigenum DUCC Y-007 hasil isolasi dari umbi bunga dahlia yang tumbuh di daerah Bandungan, Semarang Jawa Tengah. Khamir ini ditumbuhkan pada medium dengan komposisi: glukosa 10 g/L, pepton 5 g/L, yeast extract 3 g/L dan agar 20 g/L. Temperatur penyimpanan adalah 4°C.

Pembuatan Starter

R. paludigenum DUCC Y-007 ditumbuhkan pada Erlenmeyer 150 mL yang berisi medium A dengan komposisi: glukosa 10 g/l, pepton 5 g/l, yeast extract 3 g/l, pH 5. Medium B [11] dengan komposisi: glukosa 10 g/l, KH_2PO_4 5,5 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3,7 g/l; Yeast extract 1,0 g/l; pH 5. Kultur starter diinkubasi pada suhu ruang selama 18 jam pada rotary shaker dengan kecepatan 120 rpm sampai mendapatkan jumlah sel 10^7 sel / mL. Starter diambil 5% (v/v) yang digunakan untuk inokulasi pertumbuhan *R. paludigenum* DUCC Y-007.

Kondisi pertumbuhan

R. paludigenum DUCC Y-007 ditumbuhkan pada erlenmeyer 250 mL yang berisi medium dengan

komposisi sama dengan pertumbuhan starter. Kultur diinkubasi selama 120 jam, suhu ruang, pada orbital shaker dengan kecepatan 120 rpm. Pertumbuhan, gula reduksi dalam medium dan perubahan pH medium diukur setiap 24 jam sekali. Pertumbuhan dilakukan dengan mengukur berat kering sel, sedang gula reduksi diukur dengan metode DNS menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 570 nm.

Aktivitas Antioksidan

Sel khamir diekstraksi menggunakan metode sedmak *et al.* [12] (1990). Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dalam 0,2 mL metanol, larutan ini ditambah 3,8 mL larutan DPPH radikal 0,004% (w/v) dalam 95% metanol, kemudian campuran ini dihomogenkan menggunakan vorteks dan diinkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap dan temperatur ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Untuk standart digunakan metanol 95%. Aktivitas antioksidan dihitung sebagai berikut:

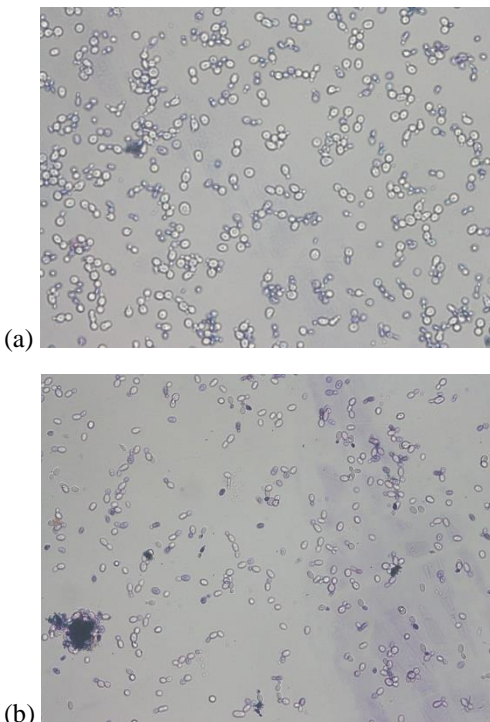
$$\frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini diawali dengan pertumbuhan khamir *R. paludigenum* DUCC Y-007 pada medium dengan komposisi berbeda. Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah: konsumsi glukosa oleh khamir tersebut dengan mengukur gula reduksi dalam medium dan pertumbuhan yang diukur dengan berat kering sel.

Morfologi sel

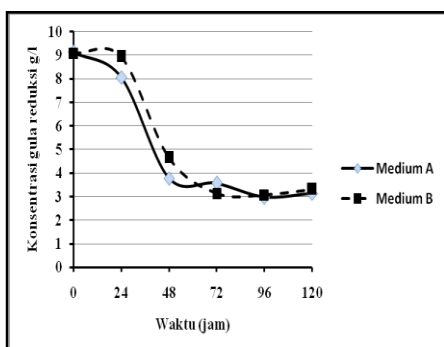
Bentuk sel khamir tersebut dapat dilihat pada Gambar 1, sel yang digunakan untuk starter menunjukkan morfologi sel yang baik dan tidak terdapat kontaminan (A). Morfologi sel ini menunjukkan perubahan setelah inkubasi selama 120 jam. Hal ini dimungkinkan karena kondisi lingkungan yang mulai tidak menguntungkan untuk pertumbuhan, sel terlihat lebih kecil.



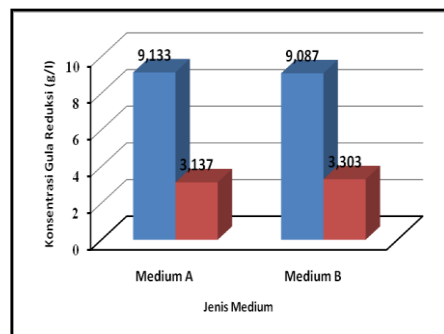
Gambar 1. Morfologi sel khamir *R. paludigenum* DUCC Y-007, diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x (A) Sel khamir untuk starter (b) Sel khamir setelah inkubasi selama 120 jam

Konsentrasi gula reduksi

Adanya pertumbuhan ditunjukkan dengan konsumsi sumber karbon yang berfungsi sebagai sumber energi, dalam hal ini sumber karbon yang digunakan adalah glukosa. Gambar 2 dan 3. menunjukkan konsentrasi gula reduksi dalam medium.



Gambar 2. Konsentrasi gula reduksi dalam medium pertumbuhan khamir *R. paludigenum* DUCC Y-007 selama inkubasi 120 jam, pada suhu ruang.

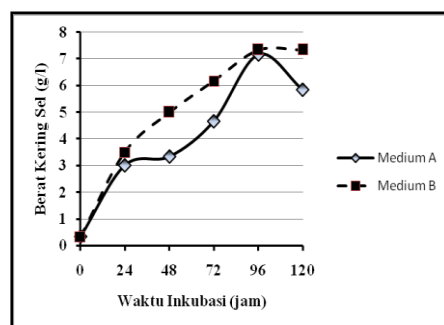


Gambar 3. Konsentrasi gula reduksi pada awal inkubasi (■) dan akhir inkubasi (■)

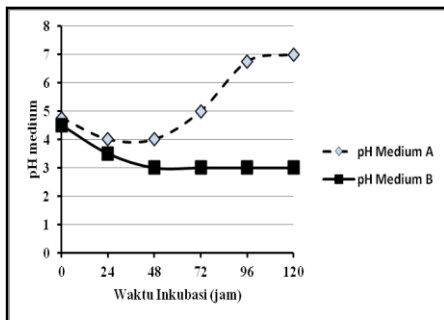
Konsentrasi gula reduksi pada awal inkubasi adalah 9,13 g/L untuk medium A dan 9,09 g/L untuk medium B (Gambar 3); konsentrasi ini mengalami penurunan sampai waktu inkubasi 72 jam dan setelah itu penurunannya tidak signifikan sampai 120 jam. Hal ini berbeda dengan berat kering sel yang diperoleh (Gambar 4).

Berat kering sel

Pertumbuhan dapat dinyatakan dengan mengukur berat kering sel. Hasil berat kering sel menunjukkan maksimum pada inkubasi 96 jam, yaitu 7,17 g/L untuk medium A dan 7,33 g/L untuk medium B. Hasil ini menunjukkan bahwa berat kering sel maksimum dicapai pada waktu inkubasi sama dan dengan nilai yang hampir sama. Perbedaannya terlihat bahwa berat kering sel masih stabil pada medium B, sedang pada medium A telah mengalami penurunan. Penelitian Yimyoo *et al.* [13] menunjukkan bahwa berat kering sel *R. paludigenum* DMKU3-LPK4 sebesar 7,59 g/L pada medium yang menggunakan gliserol sebagai sumber karbon, pH 6 dan waktu inkubasi 132 jam.



Gambar 4. Berat kering sel *R. paludigenum* DUCC Y-007 selama inkubasi 120 jam.



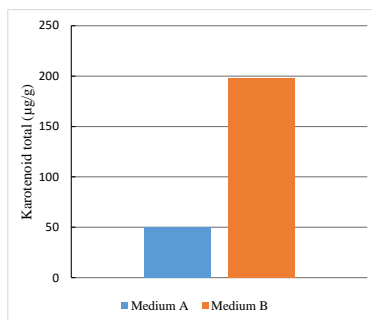
Gambar 5. Perubahan pH medium selama inkubasi 120 jam

Perubahan pH selama inkubasi terlihat bahwa pH medium A dan B sama-sama mengalami penurunan pada awal inkubasi sampai inkubasi 48 jam (Gambar 5). Pada medium A menunjukkan adanya peningkatan pH setelah 48 jam dan pH menjadi stabil setelah 96 jam inkubasi. Berbeda dengan medium B, pH medium terlihat stabil pada pH 3 setelah waktu inkubasi 48 jam.

Berdasar parameter yang diukur ini terlihat bahwa berat kering sel tidak terdapat peningkatan setelah waktu inkubasi 96 jam. Hal ini diduga bahwa kondisi pH medium yang tidak stabil, sehingga menyebabkan hambatan konsumsi gula reduksi.

Kandungan karotenoid total

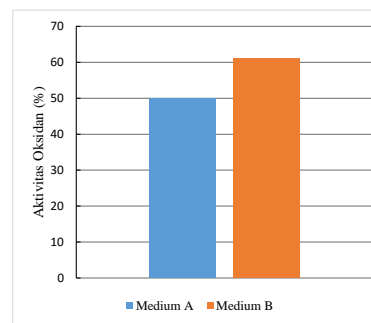
Analisis kandungan karotenoid total khamir *R. paludigenum* DUCC Y-007 menunjukkan bahwa komposisi medium mempunyai pengaruh terhadap produksi karotenoid. Kandungan karotenoid total pada medium A sebesar 50,13 µg/g sel lebih rendah dibanding pada medium B yaitu sebesar 197,50 µg/g sel. (Gambar 6).



Gambar 6. Kandungan karotenoid khamir *R. paludigenum* DUCC Y-007 pada dua medium yang berbeda setelah inkubasi selama 120 jam.

Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan persentase radikal bebas dari reagen DPPH yang dapat terikat oleh ekstrak karotenoid *R. paludigenum* DUCC Y-007. Hasil menunjukkan bahwa khamir ini mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi saat ditumbuhkan pada medium B, yaitu sebesar 61% (Gambar 7). Hasil ini menunjukkan bahwa komposisi medium mempunyai pengaruh terhadap aktivitas antioksidan karotenoid yang dihasilkan.



Gambar 7. Aktivitas antioksidan *R. paludigenum* DUCC Y-007

Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa khamir *R. paludigenum* DUCC Y-007 dapat tumbuh baik pada 2 medium perlakuan, hanya konsumsi sumber karbon tidak maksimal. Optimasi pertumbuhan dengan memperhatikan faktor-faktor pertumbuhan.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada sumber dana BOPTN yang telah memberi dana penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Turkan Mutlu Keceli, Zerrin Erginkaya, Esra Turkkan, Umit Kaya, (2013), *Antioxidant and antibacterial effects of carotenoids extracted from Rhodotorula glutinis strains*, Asian Journal of Chemistry, 25 (1), 42
- [2] Pilar Martinez-Moya, Steven A Watt, Karsten Niehaus, Jennifer Alcaíno, Marcelo Baeza, Víctor Cifuentes, (2011), *Proteomic analysis of the carotenogenic yeast Xanthophyllomyces dendrorhous*, BMC microbiology, 11 (1), 131

- [3] E. O. Chairote, Griangsak Chairote, Saisamorn Lumyong, (2009), *Red yeast rice prepared from thai glutinous rice the antioxidant activities*, Chiang Mai Journal of Science, 36 (1), 42-49
- [4] RA dos Santos da Fonseca, Ruan da Silva Rafael, Susana Juliano Kalil, Carlos André Veiga Burkert, Janaína Fernandes de Medeiros Burkert, (2013), *Different cell disruption methods for astaxanthin recovery by Phaffia rhodozyma*, African Journal of Biotechnology, 10 (7), 1165-1171
- [5] Ki-Soo Kim, Jun-Hyeong Lee, Chi-Ho Lee, Yoh-Chang Yoon, (2007), *Increased carotenoid production in Xanthophyllomyces dendrorhous G276 using plant extracts*, Journal of Microbiology, 45 (2), 128-132
- [6] Hideyuki Sakaki, Hidesato Nochide, Sadao Komemushi, Wataru Miki, (2002), *Effect of active oxygen species on the productivity of torularhodin by Rhodotorula glutinis No. 21*, Journal of Bioscience and Bioengineering, 93 (3), 338-340 [http://dx.doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80040-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80040-8)
- [7] Anna Gramza-Michałowska, Barbara Stachowiak, (2010), *The Antioxidant Potential of Carotenoid Extract from Phaffia Rhodozyma*, Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria, 9 (2), 171-188
- [8] Uma Nath Ushakumari, Ravi Ramanujan, (2013), *Isolation of astaxanthin from marine yeast and study of its pharmacological activity*, International Current Pharmaceutical Journal, 2 (3), 67-69
- [9] Amr A. El-Banna, Amal M. Abd El-Razek, Ahmed R. El-Mahdy, (2012), *Some Factors Affecting the Production of Carotenoids by Rhodotorula glutinis var. glutinis*, Food and Nutrition Sciences, 3 (1), 64-71 <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2012.31011>
- [10] Catalina Voaides, R Dima, (2012), *The effect of nitrogen source on carotenoids production by Rhodotorula sp*, Romanian Biotechnological Letters, 17 (5), 7570-7576
- [11] I. Costa, H. L. Martelli, I. M. da Silva, D. Pomeroy, (1987), *Production of β -carotene by *aRhodotorula strain**, Biotechnology Letters, 9 (5), 373-375 10.1007/bf01025808
- [12] J. James Sedmak, DeepthiK Weerasinghe, SetsukoO Jolly, (1990), *Extraction and quantitation of astaxanthin from Phaffia rhodozyma*, Biotechnology Techniques, 4 (2), 107-112 10.1007/bf00163282
- [13] Teera Yimyo, Wichien Yongmanitchai, Savitree Limtong, (2011), *Carotenoid production by Rhodosporidium paludigenum DMKU3-LPK4 using glycerol as the carbon source*, Kasetrat Journal: Natural Science, 45 (1), 90-100