

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa aroma memiliki peran penting dalam industri pangan, wewangian, dan kosmetik. Pada tahun 2023, nilai pasar global senyawa aroma mencapai sekitar 6,6 miliar USD dan diprediksi meningkat menjadi 11,8 miliar USD pada tahun 2034. Peningkatan tersebut sejalan dengan semakin tingginya minat konsumen terhadap produk yang alami dan ramah lingkungan (Balaei *et al.*, 2025). Metode sintesis kimia konvensional untuk produksi senyawa aroma masih banyak digunakan, namun metode ini memiliki kekurangan seperti rendahnya rendemen, potensi pencemaran lingkungan, dan biaya produksi yang tinggi, sehingga mendorong industri untuk mencari alternatif berbasis biologis (Yadav *et al.*, 2025). Meskipun senyawa aroma alami dapat diekstraksi langsung dari tanaman tingkat tinggi, ketersediaannya sangat bergantung pada faktor lingkungan seperti cuaca dan penyakit tanaman. Senyawa tersebut juga terikat dalam matriks tanaman yang kompleks sehingga proses isolasinya sulit dan biaya produksinya relatif tinggi (Yadav *et al.*, 2025).

Biotransformasi mikroba menjadi solusi alternatif yang menjanjikan karena mampu menghasilkan senyawa aroma dalam kondisi terkontrol, ramah lingkungan, dan produknya dapat dikategorikan sebagai perisa alami. Pemanfaatan sel mikroba sebagai biokatalis memberikan nilai ekonomi yang signifikan bagi industri pangan sebagai pengganti sintesis kimia (Yadav *et al.*,

2025). Khamir diketahui mampu menghasilkan berbagai senyawa volatil seperti alkohol rantai panjang, ester, dan turunan asam lemak yang berperan penting dalam pembentukan cita rasa pangan (Rentería-Martínez *et al.*, 2021). Salah satu produk yang banyak digunakan pada industri adalah isoamil asetat, yaitu ester beraroma pisang yang digunakan secara luas sebagai bahan tambahan pangan dalam minuman, permen, dan produk olahan susu. Secara biokimia, isoamil asetat terbentuk melalui reaksi esterifikasi antara isoamil alkohol dan asetil-KoA yang dikatalisis oleh enzim alkohol asetiltransferase (AATase) (Yoshimoto & Bogaki, 2023).

Kemampuan produksi isoamil asetat antar strain khamir sangat bervariasi, tergantung pada aktivitas enzim AATase, ketersediaan senyawa prekursor, dan respons fisiologis terhadap kondisi fermentasi (Yoshimoto & Bogaki, 2023). Perbedaan-perbedaan ini menyebabkan setiap strain memiliki kapasitas biosintesis yang berbeda, sehingga pemilihan strain menjadi langkah awal yang paling menentukan dalam pengembangan proses produksi. Penelitian sebelumnya telah melaporkan potensi berbagai strain khamir *non-Saccharomyces* dalam menghasilkan isoamil asetat. Yilmaztekin *et al.* (2013) melaporkan bahwa *Williopsis saturnus* var. *saturnus* mampu menghasilkan isoamil asetat sebesar 118 mg/L dari molase bit gula pada kondisi semiaerob dan suhu 25°C. Sementara itu, Rentería-Martínez *et al.* (2016) menunjukkan bahwa produksi isoamil asetat oleh *Pichia fermentans* ITD-00165 menghasilkan 860 mg/L melalui penambahan isoamil alkohol sebagai prekursor langsung dalam media fermentasi. Selain penambahan prekursor, ketersediaan

sumber nitrogen juga berpengaruh terhadap sintesis senyawa aroma, serta magnesium juga diketahui berperan sebagai kofaktor yang mengaktivasi enzim AATase sehingga turut berkontribusi dalam peningkatan produksi ester ini.

Meskipun demikian, penggunaan isoamil alkohol sebagai prekursor perlu diperhatikan karena senyawa ini bersifat toksik bagi sel khamir pada konsentrasi tertentu. Rentería-Martínez *et al.* (2021) melaporkan bahwa isoamil alkohol pada konsentrasi 0,5, 1,5, dan 2,5 g/L menyebabkan penurunan biomassa berturut-turut sebesar 65%, 80%, dan 96% setelah 24 jam inkubasi, yang mengindikasikan adanya efek inhibisi yang meningkat seiring kenaikan konsentrasi prekursor.

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, tingkat produksi isoamil asetat yang dilaporkan masih bervariasi dan pada umumnya belum memenuhi kebutuhan skala industri. Hal ini menunjukkan bahwa optimasi media fermentasi merupakan langkah yang sangat penting sebelum produksi metabolit dilakukan pada skala yang lebih besar, karena komposisi media secara langsung mempengaruhi produktivitas sel dan pembentukan produk akhir. Ketersediaan nutrisi yang tidak tepat, baik dalam jenis maupun konsentrasinya, dapat menghambat pertumbuhan sel maupun sintesis metabolit yang diinginkan (Singh *et al.*, 2017). Oleh karena itu, penelitian ini berfokus pada pemanfaatan potensi strain khamir lokal Indonesia untuk menghasilkan isoamil asetat, serta melakukan optimasi media fermentasi untuk memaksimalkan produksinya.

Optimasi pada penelitian ini dilakukan dengan pendekatan *Response Surface Methodology* (RSM) menggunakan *Box-Behnken Design* (BBD) untuk menentukan kombinasi terbaik dari tiga variabel yang diperkirakan paling berpengaruh terhadap produksi isoamil asetat, yaitu konsentrasi isoamil alkohol, amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄), dan magnesium sulfat (MgSO₄). RSM dipilih karena memungkinkan analisis interaksi antar variabel secara simultan dan prediksi kondisi optimum melalui pendekatan statistik dan matematis yang efisien (Lau *et al.*, 2023). Sementara BBD dipilih karena rancangannya hanya memerlukan tiga level perfaktor tanpa menyertakan titik ekstrem di sudut atau luar rentang percobaan, sehingga lebih efisien dalam hal jumlah percobaan yang dibutuhkan, menghemat waktu dan biaya, serta mendukung pemodelan kuadratik yang baik (Szpisják-Gulyás *et al.*, 2023). Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui strain khamir lokal Indonesia yang terbaik dalam produksi isoamil asetat serta memberikan formulasi media optimal yang dapat meningkatkan produksi isoamil asetat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Strain khamir lokal Indonesia manakah yang terbaik dalam memproduksi isoamil asetat?
2. Bagaimana komposisi optimal konsentrasi isoamil alkohol, amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄), dan magnesium sulfat (MgSO₄) dalam meningkatkan produksi isoamil asetat oleh strain khamir terpilih menggunakan pendekatan *Response Surface Methodology*?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui strain khamir lokal Indonesia yang memiliki kemampuan terbaik dalam memproduksi isoamil asetat.
2. Mengoptimalkan komposisi isoamil alkohol, amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), dan magnesium sulfat (MgSO_4) untuk meningkatkan produksi isoamil asetat oleh strain khamir yang terpilih menggunakan pendekatan *Response Surface Methodology*.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai strain khamir Indonesia yang memiliki kemampuan terbaik dalam memproduksi isoamil asetat, serta menentukan kondisi optimal media yang mendukung produksi isoamil asetat sebagai *bioflavor* pisang secara efisien.