



TUGAS AKHIR SB-141510



EVALUASI DAYA HIDUP DAN DAYA KERJA KAPANG LIPOLITIK *Aspergillus niger* PADA MEDIUM CAIR

R. Glady Putri Andhita
1512 100 010

Penguji I (Ketua Sidang)

: Dr.rer.nat Edwin Setiawan, M.Sc

Penguji II

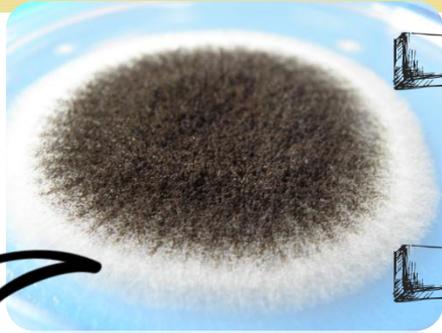
: Nur Hidayatul Alami, S.Si., M.Si

Penguji III

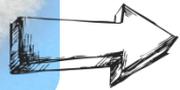
: N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si



Aspergillus niger



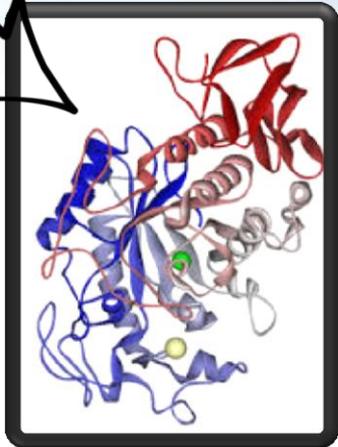
Asam glukonat



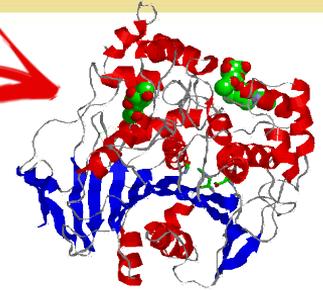
Asam sitrat

Beberapa enzim

- Amilase
- Pektinase
- Amiloglukosidase
- Selulase



Penelitian sebelumnya...



Minyak Goreng Bekas : 0,0997 U/mL

Air Pencucian Ikan : 0,177 U/mL

(Rahma, 2014)

RUMUSAN MASALAH

Bagaimana daya hidup dan daya kerja *Aspergillus niger* pada medium cair minyak goreng bekas dan air pencucian ikan pada periode waktu tertentu ?

BATASAN MASALAH

1. Isolat yang digunakan adalah hasil uji potensi penghasil lipolitik koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi ITS.
2. Periode waktu yang digunakan maksimal 2 bulan.
3. Media pembawa cairnya berupa minyak goreng bekas penggorengan ayam dan air pencucian ikan patin.

TUJUAN

Mengetahui daya hidup dan daya kerja *Aspergillus niger* sebagai agen penghasil enzim lipolitik pada medium cair minyak goreng bekas dan air pencucian ikan pada periode waktu tertentu.

MANFAAT

Dapat memberikan informasi dan rekomendasi bahwa medium cair dapat digunakan sebagai medium pertumbuhan *Aspergillus niger*.

Waktu dan Tempat Penelitian



Waktu

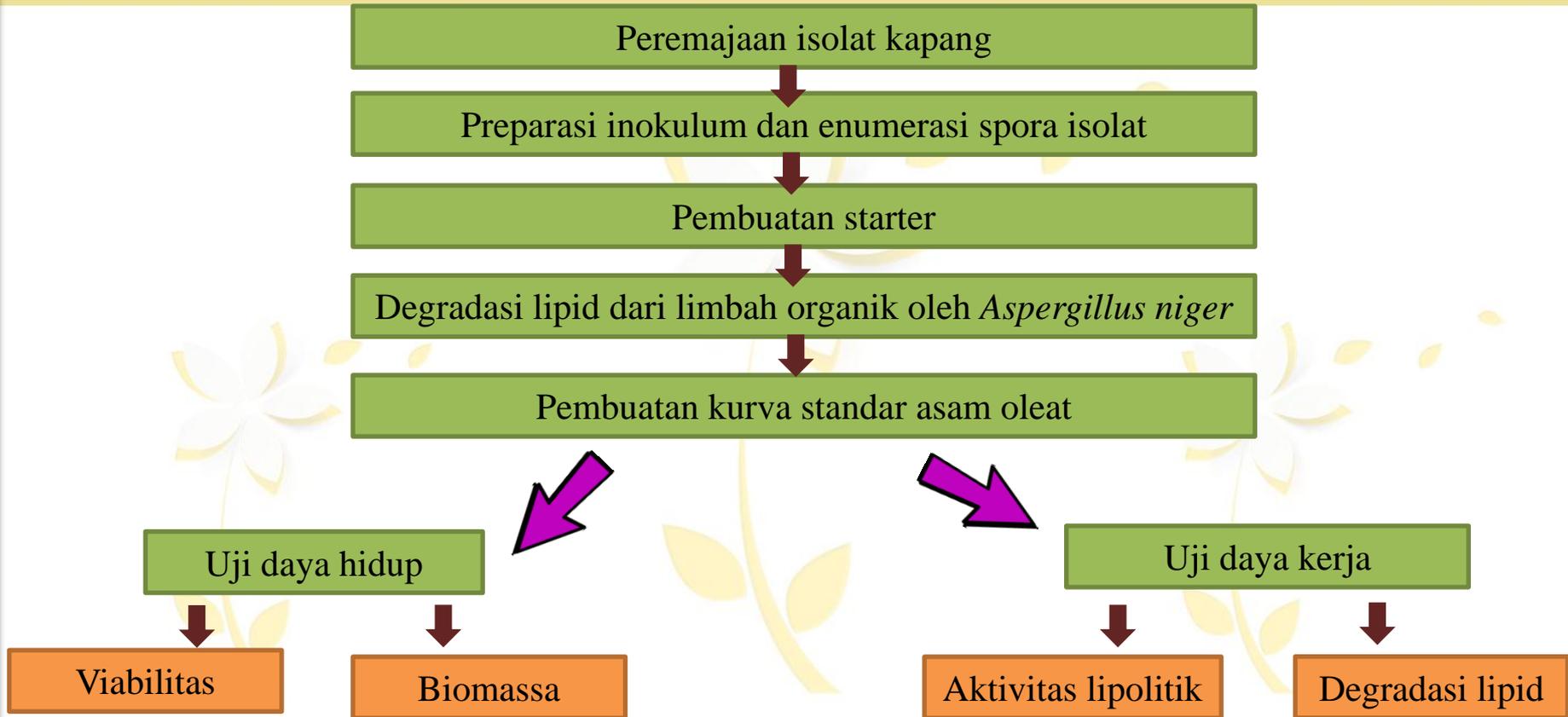
: Februari s.d Juni 2016

Tempat

: Laboratorium Mikrobiologi dan
Bioteknologi Jurusan Biologi FMIPA ITS



Skema Penelitian



Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Penelitian ini dianalisa dengan metode analisis deskriptif kuantitatif. Parameter yang digunakan yaitu viabilitas dan biomassa serta aktivitas lipolitik dan degradasi lipid. Waktu yang digunakan yaitu selama 2 bulan dengan pengujian per 2 minggu. Medium yang digunakan adalah limbah minyak goreng bekas dan limbah air pencucian ikan



Hasil dan Pembahasan

Viabilitas

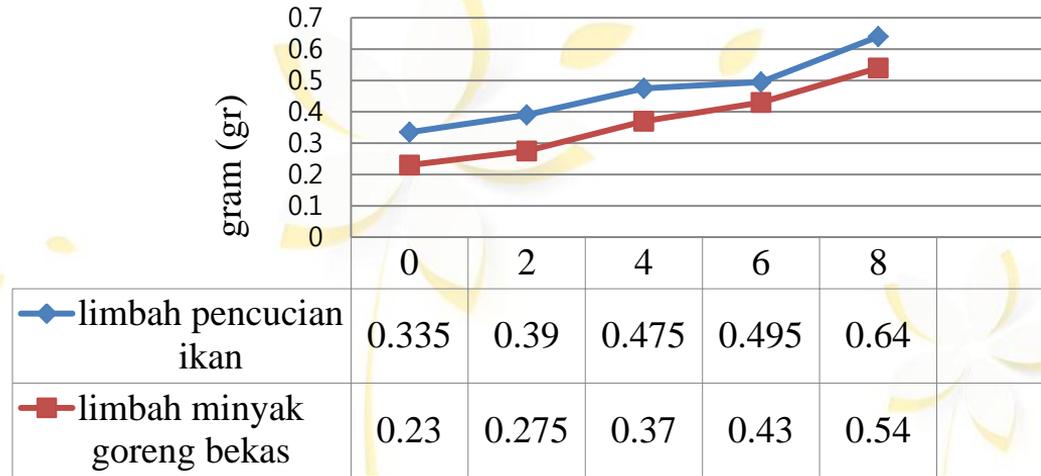


Limbah	Minggu ke-				
	0	2	4	6	8
Pencucian ikan	+	+	+	+	+
Minyak goreng bekas	+	+	+	+	+

Keterangan :
+ = hidup

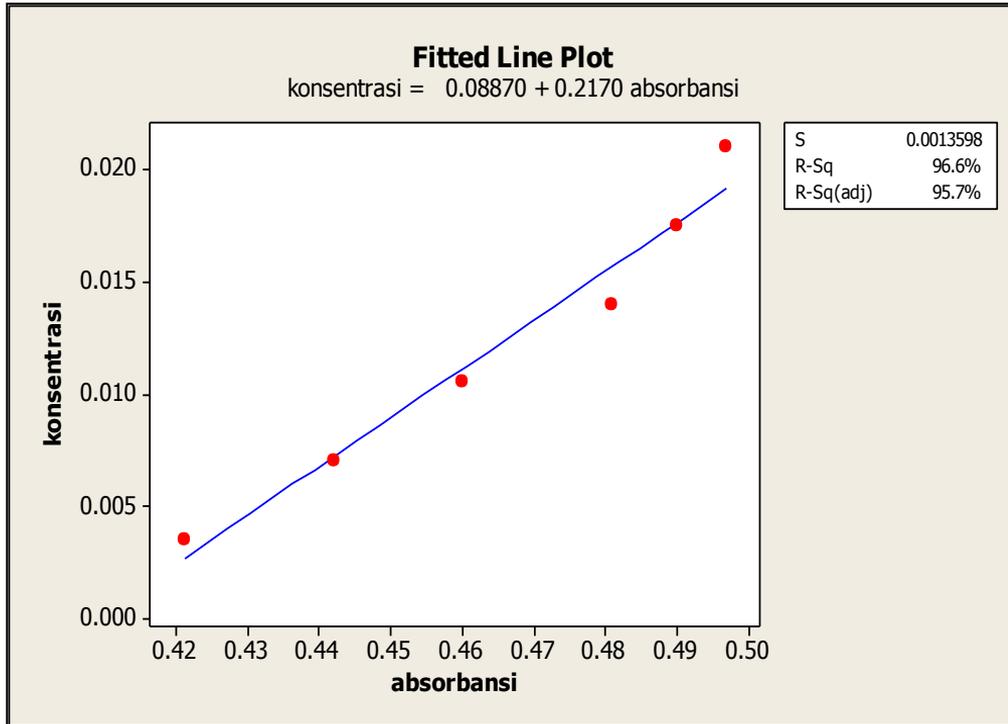
A. niger tetap dapat tumbuh dan tidak kehilangan viabilitasnya selama 2 bulan .

Uji Daya Hidup



Pada pengukuran biomassa pertumbuhan *Aspergillus niger* pada kedua medium mengalami peningkatan selama 2 bulan.

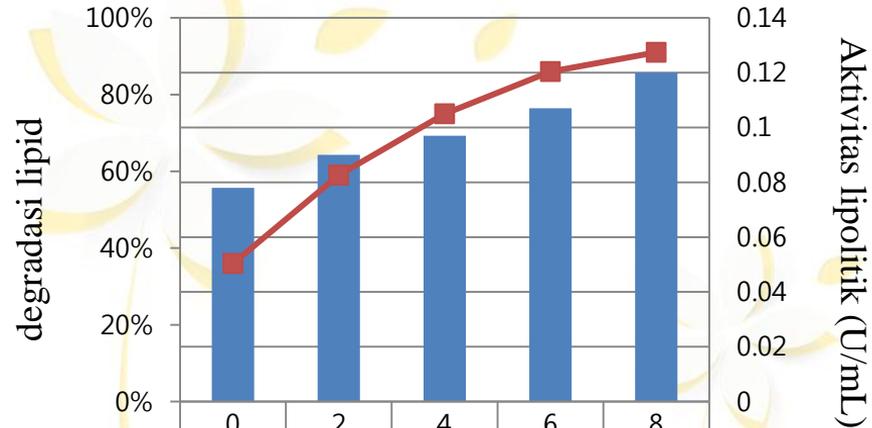
Kurva Standar Asam Oleat



Nilai $r=96\%$, artinya terdapat korelasi positif. Semakin tinggi nilai konsentrasi, maka semakin tinggi pula nilai absorbansinya.

Uji Daya Kerja

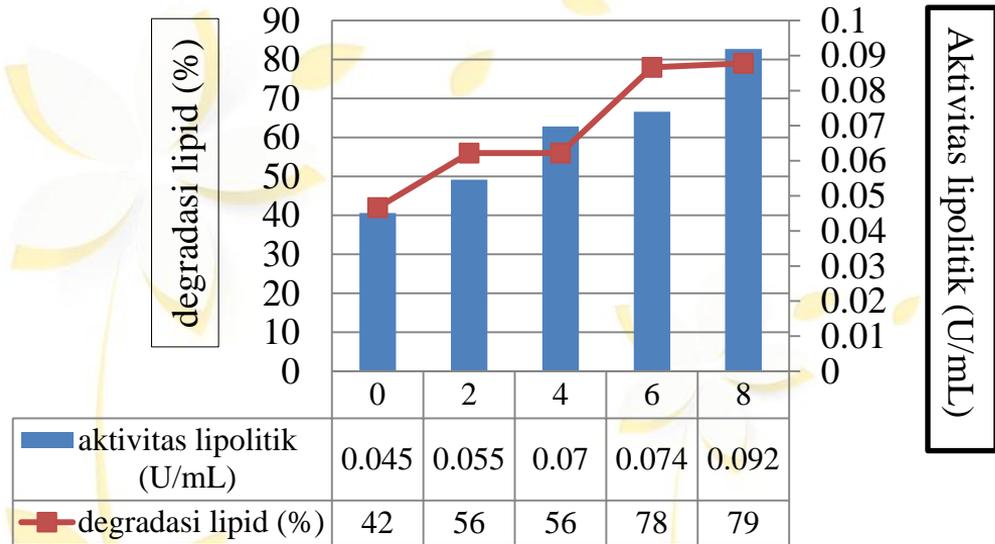
Air Pencucian Ikan



aktivitas lipolitik (U/mL)	0.078	0.09	0.097	0.107	0.12
degradasi lipid (%)	36%	59%	75%	86%	91%

Selama 2 bulan isolat mengalami peningkatan baik aktivitas maupun degradasi lipid.

Minyak Goreng Bekas



Aktivitas lipolitik dan degradasi lipid *A niger* mengalami peningkatan dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8.

Kesimpulan

1. Isolat *A. niger* viabilitasnya tetap bertahan pada medium limbah pencucian ikan dan minyak goreng bekas selama 8 minggu.
2. Aktivitas lipolitik dan degradasi lipid pada kedua limbah meningkat dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8. Nilai aktivitas tertinggi yaitu pada limbah pencucian ikan sebesar 0.12 U/mL dan untuk degradasi lipid nilai tertinggi juga pada limbah pencucian ikan sebesar 91%.

Saran

Perlu waktu inkubasi *A. niger* pada kedua medium yang lebih lama agar didapatkan potensi *A. niger* dalam menghasilkan enzim lipolitik yang lebih besar.

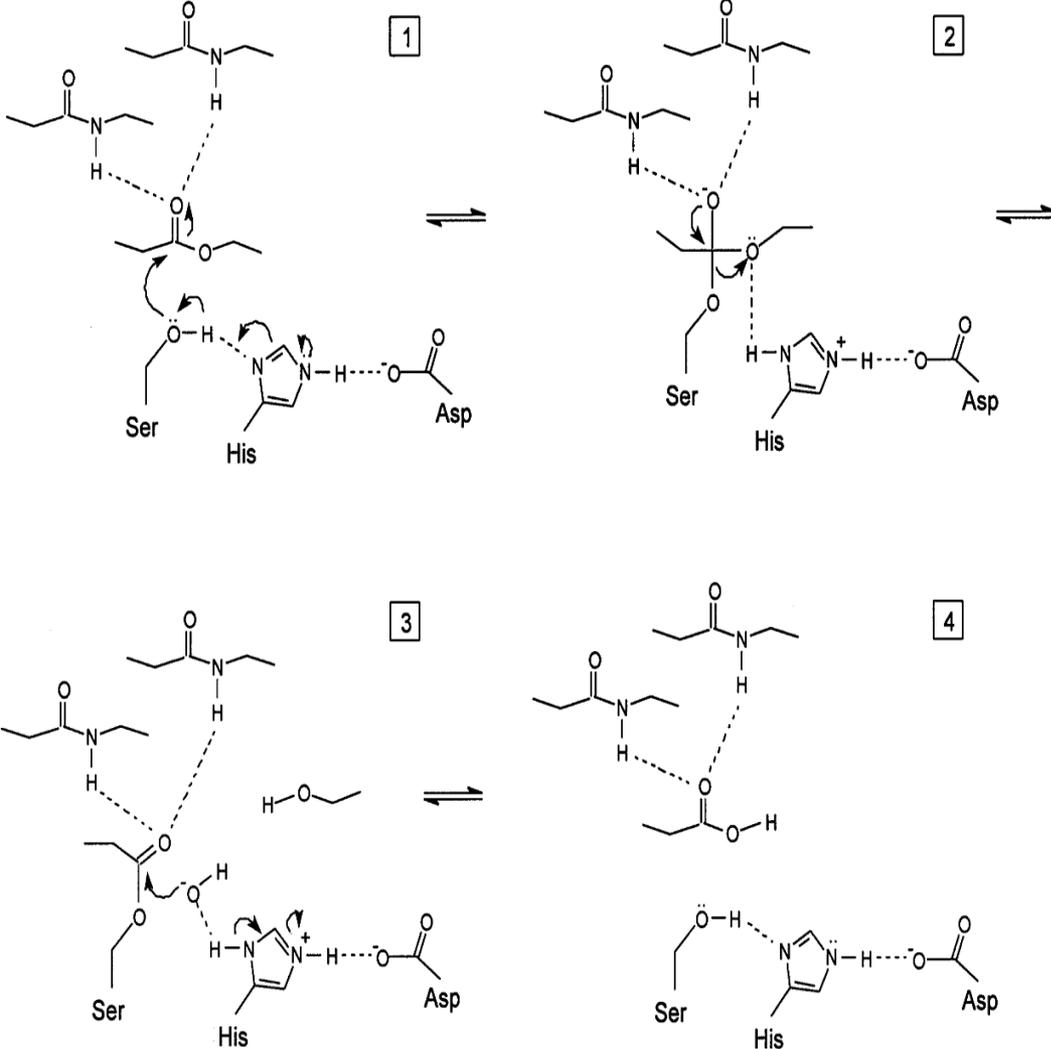
Terima kasih



No.	Pembeda	<i>Yeast</i>	<i>Mold</i>
1	Struktur	Sebagian besar uniseluler baik satu sel maupun dengan tunas yang tumbuh di sekitar sel.	Multiselular dengan tubular, hifa, berserabut membentuk cabang.
2	Dominasi kemunculan	Sebagian besar berada di lautan.	Setiap lingkungan dengan kandungan bahan organik yang memiliki suasana lembab dan kondisi yang tidak ekstrim.
3	Reproduksi	Budding atau pembelahan biner, dan konjugasi.	Produksi seksual atau aseksual, penyebaran spora di udara.
4	Kenampakan	Bulat atau oval, berwarna buram dan sebagian monokromatik.	Benang, sebagian besar berwarna (polikromatik).

Sumber : Shukla (2010).

Proses Katalisis Lipase



1. Histidin diikat pada bagian aromatik n ukleofilik
2. Elektron bebas O dari Lipase berikatan dengan gugus karboksil Lipid (C...O)
3. O lepas, serta ikatan hidroksil pada lip ase lepas dan H berikatan dengan O ya ng lain dari lipid
4. Serin dan Histidin berikatan dengan li pid
5. Ikatan karboksil antara lipid dan lipase terjadi pemutusan ikatan hidroksil enzi m, ikatan histidin lepas
6. Gugus hidroksil lepas
7. Pada saat pemutusan di bagian lain (at as), ujung ikatan OH terlepas (acyl)
8. O pada histidin berikatan dengan gugu s serin kembali

Inokulum : kultur mikroba yang dimasukkan ke dalam medium cair

Isolat : suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungan sehingga diperoleh kultur atau biakan murni

Starter : populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media

Inokulasi : memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi

Aromatik : senyawa hidrokarbon dengan ikatan tunggal dan ikatan rangkap diantara atom-atom karbonnya

•..... = konformasi

•H...N = Peptida

•H...O = Hidroksil

•C...O = Karboksil

•Kovalen : ikatan antara senyawa logam dan non logam

•Ester : ikatan c-o-o

Asam Lemak

Asam Lemak Jenuh : sepenuhnya dengan atom hidrogen, dan tidak mengandung dua rantai ikatan antara atom-atom karbon.

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam kaprilat</p>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam palmitoleat</p>	<p>Asam-asam lemak tak jenuh Sebutan ω-3, ω-6, dan ω-9, adalah tidak pantas, tetapi populer.</p>
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam laurat</p>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam oleat (ω-9)</p>	
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam stearat</p>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam linoleat (ω-6)</p>	
<p>Asam-asam lemak jenuh Atom karbon no. 1 = atom karbon pada gugus karbonil</p>		$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam linolenat (ω-3)</p>
$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}(\text{cis})-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>Asam risinoleat</p>	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{C}(\text{CH}_2)=\text{C}-(\text{CH}_2)_k-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ <p>k = 6 : Asam malvalat</p>	

Lemak tak jenuh memiliki atom hidrogen yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan jumlah atom hidrogen yang ada pada lemak jenuh. Ada dua jenis lemak tak jenuh yaitu lemak tak jenuh tunggal dan lemak tak jenuh ganda. Lemak tidak jenuh tunggal hanya memiliki sepasang molekul karbon yang tidak jenuh oleh hidrogen. Sedangkan lemak tidak jenuh ganda memiliki dua atau lebih karbon yang tidak jenuh oleh atom hidrogen.

Lemak tidak jenuh ganda merupakan lemak esensial. Minyak esensial adalah minyak yang kebutuhannya vital untuk tubuh (yang sehat) namun tidak dapat memproduksinya sehingga kebutuhannya dipenuhi dari luar (asupan makanan). Yang termasuk dalam lemak tak jenuh ganda ialah asam lemak omega-3 dan asam lemak omega-6. Lemak tidak jenuh ganda berperan dalam pembangunan membran sel, kerangka luar sel, dan selubung syaraf. Lemak ini sangat penting untuk prose penggumpalan darah, kontraksi, pelepasan otot dan peradangan. Lemak tak jenuh ganda dapat menurunkan kadar LDL dan trigliserida dalam darah sehingga dapat menurunkan terjadinya serangan jantung dan stroke.

Asam lemak jenuh :

1. Bersifat non esensial
2. Dapat disintesis oleh tubuh
3. Padat pada suhu kamar
4. Diperoleh dari sumber zat hewani contoh mentega
5. Tidak ada ikatan rangkap

Asam lemak tidak jenuh :

1. Bersifat esensial
2. Tidak dapat diproduksi tubuh
3. Cair pada suhu kamar
4. Diperoleh dari sumber zat nabati contoh minyak goreng
5. Ada ikatan rangkap



- **Pengertian lipid**

- Lipid yang terjadi secara alami merupakan molekul hidrofobik. Lipid adalah kelompok senyawa heterogen yang berkaitan dengan asam lemak. Mereka termasuk lemak, minyak, lilin, fosfolipid, dll. Mereka membuat sekitar 70% dari berat kering dari sistem saraf. Lipid sangat penting untuk kesehatan fungsi sel-sel saraf. Lipid adalah zat organik berlemak atau berminyak, lipid yang sedikit larut dalam air dan larut dalam pelarut organik seperti kloroform, eter dan benzena

- **Karakteristik Lipid**

- Lipid relatif tidak larut dalam air.

- Mereka larut dalam pelarut non-polar, seperti eter, kloroform, metanol.

- Lipid memiliki kandungan energi tinggi dan dimetabolisme untuk melepaskan kalori.

- Lipid juga bertindak sebagai isolator listrik, mereka melindungi akson saraf.

- Lemak mengandung asam lemak jenuh, mereka solid pada suhu kamar. Contoh, lemak hewan.

- Lemak tumbuhan tak jenuh dan cair pada suhu kamar.

- Lemak murni tidak berwarna, mereka memiliki rasa yang sangat hambar.

- Lemak yang sedikit larut dalam air dan karenanya dijelaskan adalah zat hidrofobik.

- Mereka bebas larut dalam pelarut organik seperti eter, aseton dan benzene.

- Titik leleh lemak tergantung pada panjang rantai asam lemak penyusun dan tingkat jenuh.

- Isomerisme geometris, kehadiran ikatan rangkap dalam asam lemak tak jenuh dari molekul lipid menghasilkan isomerisme geometris atau cis-trans.

- Lemak memiliki penyekat kapasitas, mereka adalah konduktor panas yang buruk.

- Emulsifikasi adalah proses dimana massa lipid dikonversi ke sejumlah tetesan lipid kecil. Proses emulsifikasi terjadi sebelum lemak dapat diserap oleh dinding usus.

- Lemak yang dihidrolisis oleh enzim lipase untuk menghasilkan asam lemak dan gliserol.

- Hidrolisis lemak oleh alkali disebut saponifikasi. Reaksi ini menghasilkan pembentukan gliserol dan garam asam lemak yang disebut sabun.

- Ketengikan hidrolitik disebabkan oleh pertumbuhan mikroorganisme yang mengeluarkan seperti enzim lipase. Ini membagi lemak menjadi

Tween 80 atau disebut juga polisorbat 80 merupakan surfaktan nonionik dan emulsifier yang berasal dari sorbitan polietoksilat dan asam oleat. Gliserol triolein merupakan substrat yang tepat untuk lipase, namun triolein tidak larut dalam air. Seangkan tributyrin adalah substrat yang biasa digunakan dalam uji lipolitik, namun zona degradasi tidak terlalu jelas (Samad et al., 1988), oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan Tween 80 untuk menginduksi enzim lipase. Kumar et al., (2012) menyatakan, Tween (ester asam lemak dari polioksietilen sorbitan) telah menjadi substrat yang paling banyak digunakan untuk uji lipase atau esterase yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam media agar. Tween 80 sebagian besar dihidrolisis oleh lipase karena mengandung ester dari asam oleat. Lipase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu memecah lipid menjadi asam lemak dan gliserol (Emanuilova et al., 1993 dalam Kumar et al., 2012)



Reproduksi secara aseksual terjadi dengan pembentukan kuncup atau tunas pada jamur uniseluler serta pemutusan benang hifa (fragmentasi miselium) dan pembentukan spora aseksual (spora vegetatif) pada fungi multiseluler. Reproduksi jamur secara seksual dilakukan oleh spora seksual.

Menurut Miskiyah *et al.*(2006), *Aspergillus niger* mempunyai hifa bersepta, koloninya berwarna putih pada PDA 25°C dan berubah menjadi hitam ketika konidia dibentuk. Kepala konidia dari *Aspergillus niger* berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar seiring dengan bertambahnya umur. Selain itu, *Aspergillus niger* memiliki warna dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Secara makroskopis, permukaan terlihat berwarna hitam, ketika diposisi terbalik (berlawanan) terlihat berwarna putih kekuningan.

Karakteristik fungi

Nukleus: Eukariot, uni atau multinukleat, thalus: homo atau heterokariotik, haploid, dikariotik atau di ploid

Tidak memiliki klorofil

Memiliki Dinding sel yang mengandung Glukan dan Kitin, Beberapa mengandung gkukan dan selulose (Oomycota)

Bersifat heterotrof

Menghasilkan spora atau konidia dalam jumlah banyak

Melakukan reproduksi seksual dan atau aseksual

Siklus hidup : sederhana dan kompleks

Habitat: terestrial, fresh water dan sedikit yang di laut.

Ekologi: sapotrof, simbion mutualistik, parasit atau hyperparasit

Distribusi: Kosmopolitan

Hifa dan Miselia

Hifa merupakan tabung protoplasma yang dikelilingi dinding sel

Perpanjangan hifa terjadi pada “hyphal tip” → dimana terjadi aliran sitoplasma dan isinya, selama perpanjangan terjadi (1 - 10 μm / menit)

Hifa membentuk cabang ketika hifa lama sudah tidak dapat tumbuh

Hifa dalam jumlah banyak membentuk miselia/miselium → dapat dilihat & seperti kapas

Septa

Septa atau dinding pemisah sel dan membagi sitoplasma

Beberapa fungi tidak punya septa ketika tumbuh dengan baik, tetapi akan terbentuk septa bila selnya tua atau rusak atau diproduksi struktur reproduksi oleh hifa lainnya

Kebanyakan fungi mempunyai hifa yang mambelah menjadi sel-sel baru dengan septa

Sel bisa:

- Uninukleat
- binukleat
- multinukleat

Reproduksi seksual

Reproduksi seksual : penggabungan 2 sel haploid (N)

Meliputi: hifa yang tidak berdiferensiasi, gamet atau gametangia

Gamet: Satu sel yang motil atau tidak, berfungsi sebagai sel seksual yang akan bergabung dengan nukleus dan sitoplasma sel lainnya

Gametangia: sel multinukleat yang terdiferensiasi, yang menghasilkan gamet atau sel lain yang berfungsi untuk perkawinan (mating) dengan sel lain

Reproduksi non seksual

Terjadi selama fase haploid, dikariotik atau fase diploid dari siklus seksual atau terjadi pada organisme yang tidak memiliki siklus seksual

Tidak terjadi meiosis