

**KARAKTERISASI MOLEKULER DAN PENENTUAN AKTIVITAS ENZIM  
EKSTRASELULER DARI KHAMIR PENGHASIL LIPID (*OLEAGINOUS  
YEAST*) YANG DIISOLASI DARI TANAH DAN SERASAH KEPULAUAN  
RAJA AMPAT PROVINSI PAPUA BARAT**

*Skripsi Sarjana Kimia*

Oleh :

**EKA YULIA PERTIWI**  
**05132066**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ANDALAS**

**PADANG**

**2010**

## ABSTRAK

### KARAKTERISASI MOLEKULER DAN PENENTUAN AKTIVITAS ENZIM EKSTRASELULER DARI KHAMIR PENGHASIL LIPID (*OLEAGINOUS YEAST*) YANG DIISOLASI DARI TANAH DAN SERASAH KEPULAUAN RAJA AMPAT PROVINSI PAPUA BARAT

Oleh :  
Eka Yulia Pertiwi

Sarjana Sains (S.Si) dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas  
Dibimbing oleh Prof. Dr. Sumaryati Syukur dan Dr. I Made Sudiana, MSc

Penelitian mengenai *Oleaginous yeast* atau khamir penghasil lipid, telah dilakukan sejak lama. Namun, pemanfaatan jerami yang telah dihidrolisis dan merupakan limbah pertanian sebagai pengganti sumber karbon pada medium tumbuh *Oleaginous yeast*, merupakan alternatif menarik dan ekonomis. Khamir yang telah diisolasi dari tanah dan serasah Kepulauan Raja Ampat Provinsi Papua Barat ini kemudian dipindahkan masing-masingnya pada 2 jenis medium perlakuan berbeda yaitu YPD enrichment dan YPD N-limited dengan suhu inkubasi 25°C dan kecepatan pengadukan 100 rpm, dilakukan pengukuran total lipid dengan metoda Sudan Black B dan jumlah sel khamir menggunakan metoda kerapatan optis (OD). Dari hasil pengukuran ini, didapatkan 5 khamir potensial penghasil lipid yaitu ; Y08 RA 04, Y08 RA 23, Y08 RA 24, Y08 RA 26 dan Y08 RA 31, dan didapatkan waktu optimum inkubasi penghasil lipid terbesar yaitu pada 72 jam. Kemudian pengukuran total lipid dilanjutkan dengan menaikkan suhu inkubasi menjadi 40°C dan kecepatan pengadukan menjadi 180 rpm terhadap 5 khamir potensial tersebut. Dari hasil pengukuran ini, didapatkan suhu optimum dalam produksi lipid adalah 25°C dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Sehingga dari 5 khamir ini, dipilih kembali 3 khamir yang benar-benar potensial yaitu Y08 RA 04, Y08 RA 24 dan Y08 RA 26, yang selanjutnya ditumbuhkan dalam filtrat jerami yang sebelumnya telah dihidrolisis menggunakan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, dengan menggunakan suhu optimum 25°C, kecepatan pengadukan 100 rpm, kemudian dilakukan pengukuran total lipid dan aktivitas enzim ekstraselulernya yaitu amilase, invertase dan selulase dengan metoda DNS. Dari pengukuran ini, didapatkan khamir penghasil lipid potensial dan pendegradasi substrat karbon terbaik yaitu Y08 RA 26, yang setelah diidentifikasi dengan metoda PCR berasal dari jenis *Cryptococcus flavescens* dengan tingkat kemiripan 99%. Untuk mengetahui jenis lipid yang dihasilkan oleh khamir ini, dilakukan analisa GC-MS dan didapatkan kandungan lipid terbesar dalam khamir ini yaitu asam oleat (18:1.ω7c) dengan persentase sebesar 70,88%.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Beberapa *Oleaginous Microorganisms* atau mikroorganisme penghasil lipid, seperti khamir, jamur, bakteri ataupun mikroalga dapat memproduksi *Microbial Oils*. Mikroorganisme penghasil lipid ini, telah diketahui beberapa tahun yang lalu, dan telah diadakan penelitian dan terbukti bahwa mikroorganisme jenis ini dapat menghasilkan lipid. Memproduksi *Microbia Oils* memiliki beberapa keuntungan, yaitu siklus hidupnya singkat sehingga mudah memproduksi lipid dalam waktu yang relatif cepat dan tidak dipengaruhi oleh iklim ataupun musim, serta hasilnya tidak jauh berbeda dari lipid yang dihasilkan oleh tumbuhan ataupun hewan<sup>32</sup>.

Lipid merupakan golongan senyawa hidrokarbon alifatik nonpolar dan hidrofobik. Karena nonpolar lipid tidak larut dalam pelarut polar seperti air, tetapi larut dalam pelarut nonpolar seperti alkohol, eter atau kloroform.<sup>33</sup> Salah satu kategori dari lipid adalah asam lemak. Asam lemak adalah senyawa alifatik dengan gugus karboksil. Bersama-sama dengan gliserol, merupakan penyusun utama minyak nabati atau lemak dan merupakan bahan baku untuk semua lipid pada makhluk hidup. Asam ini mudah dijumpai dalam minyak masak (goreng), margarin, atau lemak hewan dan menentukan nilai gizinya. Secara alami, asam lemak bisa berbentuk bebas (karena lemak yang terhidrolisis) maupun terikat sebagai gliserida.<sup>34</sup>

Lipid yang dihasilkan dari *Oleaginous Microorganisms*, dapat digunakan sebagai salah satu alternatif bahan baku untuk menghasilkan bahan bakar hayati pengganti bahan bakar minyak yang saat ini sedang mengalami kelangkaan. Selain menggunakan lipid yang berasal dari *Oleaginous microorganisms* sebagai bahan baku untuk produksi bahan bakar hayati, penggunaan bahan-bahan yang mengandung lignoselulosa, yang biasanya terdapat

dalam limbah pertanian atau perkebunan, seperti jerami, dan *corn stalk* merupakan salah satu alternatif yang dapat dipilih untuk penyediaan bahan baku<sup>2</sup>.

Jerami sebagai limbah pertanian, sering menjadi permasalahan bagi petani, sehingga sering di bakar untuk mengatasi masalah tersebut, dan akibat pembakaran ini, justru menjadi ancaman bagi lingkungan karena dapat menyebabkan polusi udara. Produksi jerami padi dapat mencapai 12 - 15 ton per hektar per panen, bervariasi tergantung pada lokasi dan jenis varietas tanaman padi yang digunakan. Produksi padi nasional mencapai 54,75 juta ton pertahun pada tahun 2006, meningkat sebesar 1,11% dibandingkan produksi padi tahun 2005. Peningkatan produksi padi juga diiringi peningkatan limbah jerami padi<sup>11</sup>.

Lignoselulosa merupakan kandungan terbanyak di dalam jerami. Lignoselulosa ini, terdiri dari campuran polimer karbohidrat yaitu selulosa dan hemiselulosa. Selulosa adalah polimer glukosa yang tidak bercabang. Bentuk polimer ini memungkinkan selulosa saling menumpuk atau terikat menjadi bentuk serat yang sangat kuat. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan enzim atau asam.

Penelitian mengenai *Oleaginous Yeast* (Khamir penghasil lipid) telah banyak dilakukan. Beberapa spesies khamir seperti *Cryptococcus albidus*, *Lipomyces lipofera*, *Lipomyces starkeyi*, *Rhodospiridium toruloides*, *Rhodotorula glutinis*, *Trichosporon pullulan*, dan *Yarrowia lipolytica*, yang dilaporkan dapat menghasilkan lipid dibawah kondisi kultivasi tertentu<sup>4</sup>. Khamir merupakan bentuk uniseluler dari jamur, mereka memiliki kemampuan untuk memfermentasi glukosa menjadi etanol. Khamir banyak dijumpai di alam. Seperti di daun, bunga, batang, tanah bahkan di air<sup>12</sup>. Tapi, hanya beberapa khamir saja yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan lipid.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi khamir yang diisolasi dari tanah dan serasah pada kepulauan Raja Ampat Provinsi Papua Barat sebagai *Oleaginous Yeast* dan juga untuk mengetahui potensi limbah pertanian khususnya jerami, sebagai bahan baku penghasil lipid.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan yaitu mengenai karakterisasi molekuler dan penentuan aktivitas enzim ekstraseluler dari khamir pensintesis lipid (*oleaginous yeast*) yang diisolasi dari tanah dan serasah Kepulauan Raja Ampat Propinsi Papua Barat, dapat disimpulkan bahwa :

1. Pembentukan lipid dipengaruhi oleh jumlah Nitrogen, pH, suhu dan kecepatan pengadukan.
2. Jerami dapat digunakan sebagai substrat yang paling ekonomis dan optimum untuk menghasilkan lipid.
3. Khamir yang berpotensi sebagai khamir pensintesis lipid (*oleaginous yeast*) yang diisolasi dari tanah dan serasah pada kepulauan raja ampat propinsi papua barat berasal dari isolat khamir Y08 RA 26.
4. Selain berpotensi sebagai khamir pensintesis lipid (*oleaginous yeast*), Isolat khamir Y08 RA 26 juga memiliki kemampuan untuk mendegradasi substrat karbon (Amilum, sukrosa dan CMC).
5. Setelah diidentifikasi, isolat khamir yang berperan sebagai *oleaginous yeast* yaitu Y08 RA 26 berasal dari jenis *Cryptococcus flavescens*.
6. Jenis lipid tertinggi yang dihasilkan dari *Cryptococcus flavescens* adalah dari jenis asam oleat.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Botham, Philip A and Colin Ratledge. 1979. *A biochemical explanation for lipid accumulation in Candida 107 and other oleaginous micro-organisms*. Journal of general microbiology, 114, 361-375.
2. Dai, Chuan-chao, et al. 2007. *Biodiesel generation from oleaginous yeast Rhodotorula glutinis with xylose assimilating capacity*. African Journal of Biotechnology Vo. 6 (18), pp. 2130-2134
3. Holdsworth, Jane E, et al. 1988. *Enzyme activities in oleaginous yeast accumulating and utilizing exogenous or endogenous lipids*. Journal of general microbiology, 134, 2907-2915
4. Li, Qiang, et al. 2008. *Perspectives of microbial oils for biodiesel production*. Appl Microbiol Biotechnol 80 : 749-756
5. Pan, Li-Xia, et al. 2009. *Isolation of the Oleaginous yeasts from the soil and studies of their lipid-producing capacities*. Food Technol, Biotechnol. 47 (2) 215-220
6. Ratledge, Colin and Zvi Cohen. 2008. *Microbial and algal oils : do they have a future for biodiesel or as commodity oils ?*, Lipid technology. Vol 20, No.7
7. Evans, Christopher. T, et al. 1983. *Effect of Nitrogen Source on Lipid Accumulation in Oleaginous Yeast*. Journal of general microbiology, 130. 1693-1704
8. Chen, Y.C. et al. 2000. *Identification of Medically Important Yeasts Using PCR-Based Detection of DNA Sequence Polymorphisms in the Internal Transcribed Spacer 2 Region of the rRNA Genes*. American Society for Microbiology. 2302-2310
9. Ikhsan , Diyono, dkk. 2008. *Pengembangan Bioreaktor Hidrolisis Enzimatis Untuk Produksi Bioetanol Dari Biomassa Jerami Padi*.
10. Atmojo , Suntoro Wongso . 2006. *Potensi Pertanian Dalam Mengatasi Krisis Energi*. Orasi Dies Natalis Xxx (Lustrum V )Universitas Sebelas Maret Pada Sidang Senat Terbuka.
11. Berita Resmi Statistik. 2006. *Produksi Jagung, Padi dan Kedelai*. Berita Resmi Statistik Volume 35/IX
12. [yeast-curator@yeastgenome.org](mailto:yeast-curator@yeastgenome.org)
13. [www.bio99693/ask\\_a\\_scientist/yeast\\_and\\_temperature.htm](http://www.bio99693/ask_a_scientist/yeast_and_temperature.htm)
14. Efendi, Hefni . 2009. *Biofuel dari Microfungi dan Microalgae*. GATRA: 18 November 2009.