

SKRINING DAN OPTIMASI pH DAN SUMBER KARBON KHAMIR *OLEAGINOUS* ASAL BREM DAN TUAK BALI DALAM MENGHASILKAN LIPID



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2023**

LEMBAR PENGESAHAN

I
II
III
IV
V
VI
VII
VIII
IX
X

SKRINING DAN OPTIMASI pH DAN SUMBER KARBON KHAMIR OLEAGINOUS ASAL BREM DAN TUAK BALI DALAM MENGHASILKAN LIPID

Nama Mahasiswa : Desty Saszieta

No. Registrasi : 1308618039

Penanggung Jawab

Dekan : Prof. Dr. Muktiningsih N., M.Si.
NIP. 19640511 198903 2 001

Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Desty Saszieta		28/8/2023
Dr. Esmar Budi, S.Si., M.T.		28/8/23
Dr. Reni Indrayanti, M.Si.		25/08/2023

Wakil Penanggung Jawab

Wakil Dekan I : Dr. Esmar Budi, S.Si., M.T.
NIP. 19720728 199903 1 002

Ketua : Dr. Reni Indrayanti, M.Si.
NIP. 19621023 199803 2 002

Sekretaris/Penguji I : Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si.
NIP. 19660316 199203 2 001

Anggota

Pembimbing I : Dr. Dalia Sukmawati, M.Si.
NIP. 19730914 200604 2 001

Pembimbing II : Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed.
NIP. 19790925 20051 2 002

Penguji II : Dr. Adisyahputra, M.S.
NIP. 19601111 198703 1 003

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 21 Agustus 2023

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul “**Skrining dan Optimasi pH dan Sumber Karbon Khamir *Oleaginous* Asal Brem dan Tuak Bali dalam Menghasilkan Lipid**” yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh penulis lain yang telah dipublikasikan yang disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam daftar pustaka sesuai dengan normal, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Jika kemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi-sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, Juli 2023

Pembuat pernyataan



Desty Saszieta



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
UPT PERPUSTAKAAN

Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220

Telepon/Faksimili: 021-4894221

Laman: lib.unj.ac.id

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Desty Saszieta

NIM : 1308618039

Fakultas/Prodi : FMIPA/Biologi

Alamat email : saszietadesty@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif atas karya ilmiah:

Skripsi

Tesis

Disertasi

Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Skrining dan Optimasi pH dan Sumber Karbon Khamir *Oleaginous* Asal Brem dan Tuak Bali dalam Menghasilkan Lipid.

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 23 Agustus 2023

Penulis

(Desty Saszieta)

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT Tuhan yang maha esa karena atas rahmat dan karuniaNya maka penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Skrining dan Optimasi pH dan Sumber Karbon Khamir *Oleaginous* Asal Brem dan Tuak Bali dalam Menghasilkan Lipid” dengan sebaik-baiknya. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk mencapai gelar Sarjana Sains Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, motivasi dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada: Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya juga selalu memberikan motivasi, nasihat baik, dan kesempatan untuk terus mengembangkan diri kepada penulis selama berkuliah di Prodi Biologi Universitas Negeri Jakarta. Ibu Ns. Sri Rahayu, M.Biomed selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan bimbingan, motivasi, masukan dan kesabaran untuk membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa memberikan nikmat sehat, menambahkan ilmu dan mencerahkan cinta-Nya kepada ibu. Terima kasih kepada hibah penelitian Riset Indonesia Maju (RIM) Gelombang 3 Tahun 2023 atas nama Dalia Sukmawati dengan judul “Alternatif Ketahanan Pangan Kaya Gizi Berbasis *Black Soldier Fly (Hermetia illucens)* dan Khamir *Oleaginous* Probiotik Melalui Pendekatan Metabolomik.” Dengan nomor kontak 55/IV/KS/05/2023. Nomor: B/306/UN39.14/A.05.12/V/2023. yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih kepada Dosen penguji Ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si dan Bapak Dr. Adisyahputra, MS. yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Dan terima kasih kepada Ibu Dr. Reni Indrayanti, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan motivasi dan bimbingan dari awal masa perkuliahan serta terima

kasih kepada seluruh dosen program studi Biologi yang telah memberikan pengalaman dan ilmu yang bermanfaat kepada penulis.

Terima kasih kepada Ibu Desi, Kak Leni, Kak Sayid, Kak Allika, Kak Reza dan Pak Hadirin yang selalu berkenan membantu penulis dalam menjalankan penelitian di lantai 9. Kepada Ibu Sulis, Pak Mulyadi, dan Kak Ica selaku peneliti BRIN yang telah membimbing dan membantu penulis selama penelitian di BRIN. Serta tak lupa terima kasih kepada Kak Kirana Anjani selaku alumni UGM yang dengan sangat baik dan sabar telah membantu penulis dalam menjalankan penelitian ini.

Terima kasih juga kepada kedua orang tua saya yaitu Bapak Zunaidi dan Ibu Juju Jumirah yang selalu memberikan cinta dan kasih, mendoakan serta memberikan dukungan baik secara lahiriah dan batiniah.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada rekan seperjuangan skripsi *Mycoteam* 2018: Vella, Bella, Jijah, Probo, Axel, Syifa, Nadya, dan Ica. Serta kakak-kakak *Mycoteam* 2017 dan adik-adik *Mycoteam* 2019 (Yohannes, Alifia, Sarah, Famira, Sheyla, Desta, Afifah, Violina, Shoffia) yang telah senantiasa membantu penulis dan mengisi hari-hari bersama di laboratorium mikrobiologi selama penelitian. Kepada teman terdekat selama perkuliahan: Vella, Axel, Lintang, Amel, Arinal, Vierda, Hania dan Eliz, yang telah memberikan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan masa studi ini. Terima kasih kepada teman-teman Biologi B 2018, *Rhizophora stylosa*, dan Kelompok Studi KPB *Nycticorax* UNJ yang telah memberikan banyak pengalaman dan ilmu baru.

Saya berharap tulisan yang sangat sederhana ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan, untuk itu penulis mohon maaf, kritik, dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini.

Jakarta, Juli 2023

Desty Saszieta

ABSTRAK

DESTY SASZIETA. Skrining dan Optimasi pH dan Sumber Karbon Khamir *Oleaginous* Asal Brem dan Tuak Bali dalam Menghasilkan Lipid. Dibawah bimbingan DALIA SUKMAWATI, SRI RAHAYU.

Lipid merupakan senyawa organik yang dapat dimanfaatkan dalam industri makanan dan farmasi. Lipid organik dapat dihasilkan dari tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan lipid adalah khamir *oleaginous*. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan isolat khamir koleksi UNJCC asal tuak dan brem bali dalam menghasilkan lipid, mengetahui identitas khamir, serta mengetahui pengaruh variasi sumber karbon dan pH dalam produksi lipid. Seluruh isolat dilakukan peremajaan dan di uji kualitatif menggunakan metode sudan III serta uji kuantitatif menggunakan metode NLMB (*Nitrogen Limited Medium Broth*), selanjutnya tiga isolat yang memiliki nilai kuantitatif tertinggi akan dilakukan identifikasi molekular berdasarkan daerah D1/D2 serta karakterisasi morfologi. Hasil peremajaan 16 isolat khamir asam brem bali dan 4 isolat khamir asal tuak bali diperoleh koloni dengan morfologi 85% *mucoid*-putih dan 15% *butyrous*-putih. Hasil skrining kualitatif didapatkan 100% isolat khamir memiliki warna kuning-orange setelah diuji menggunakan metode sudan III. Hasil skrining kuantitatif diperoleh 3 isolat yang memperoleh nilai persentase lipid tertinggi yaitu *Vishniacozyma victoria* UNJCC Y-89 ($12,4 \pm 1,38\%$), UNJCC Y-85 ($11,9 \pm 1,21\%$), dan *Pichia kudriavzevii* UNJCC Y-109 ($11,5 \pm 1,92\%$). Hasil identifikasi diperoleh isolat UNJCC Y-85 teridentifikasi sebagai spesies *Debaryomyces hansenii*. Hasil pengujian nilai persentase lipid berdasarkan optimasi dengan 3 variasi pH (5, 6, 7), 3 variasi sumber karbon (glukosa, fruktosa, dan campuran glukosa fruktosa) dan jenis isolat *Vishniacozyma victoria* UNJCC Y-89, *Debaryomyces hansenii* UNJCC Y-85, dan *Pichia kudriavzevii* UNJCC Y-109) didapatkan persentase lipid tertinggi sebesar $60,68 \pm 5,3\%$ pada khamir *Vishniacozyma victoriae* UNJCC Y-89 di pH 5 dengan penambahan sumber karbon glukosa.

Kata Kunci: *Jenis isolate, Khamir oleaginous, pH, Persentase lipid, Variasi karbon.*

ABSTRACT

DESTY SASZIETA. Screening And Optimization Of Ph And Carbon Sources Of *Oleaginous* Yeast From Brem And Tuak Bali In Producing Lipid. Under Supervised by DALIA SUKMAWATI, SRI RAHAYU.

Lipids are organic compounds that can be used in the food and pharmaceutical. Organic lipids can be produced from plants, animals and microorganisms. One of the microorganisms that can produce lipids is *oleaginous* yeast. The aims of this study were to obtain yeast isolates from the UNJCC collection from tuak and brem bali in producing lipids, to determine yeast identity, and to determine the effect of variations in carbon sources and pH on lipid production. All isolates underwent rejuvenation and qualitative tests using the Sudan III method as well as quantitative tests using the NLMB (Nitrogen Limited Medium Broth) method. Furthermore, the three isolates that had the highest quantitative values were subjected to molecular identification based on the D1/D2 area and morphological characterization. The results of rejuvenation of 16 isolates of soursop brem bali yeast and 4 isolates of yeast from bali palm wine obtained colonies with a morphology of 85% mucoid-white and 15% butyrous-white. The results of the qualitative screening showed that 100% yeast isolates had a yellow-orange color after being tested using the Sudan III method. The results of the quantitative screening obtained 3 isolates that obtained the highest lipid percentage values, namely *Vishniacozyma victoria* UNJCC Y-89 ($12.4 \pm 1.38\%$), UNJCC Y-85 ($11.9 \pm 1.21\%$), and *Pichia kudriavzevii* UNJCC Y-109 ($11.5 \pm 1.92\%$). Identification results obtained isolate UNJCC Y-85 identified as a species of *Debaryomyces hansenii*. The results of testing the percentage value of lipids based on optimization with 3 variations of pH (5, 6, 7), 3 variations of carbon sources (glucose, fructose, and a mixture of glucose fructose) and the type of isolate *Vishniacozyma victoria* UNJCC Y-89, *Debaryomyces hansenii* UNJCC Y-85, and *Pichia kudriavzevii* UNJCC Y-109) obtained the highest lipid percentage of $60.68 \pm 5.3\%$ in yeast *Vishniaco zyma victoriae* UNJCC Y-89 at pH 5 with the addition of a carbon source of glucose.

Keywords: *Oleaginous yeast*, *Carbon variation*, *Percentage of lipids*, *Type of isolate*.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	4
A. Minuman Fermentasi (Brem dan Tuak Bali).....	4
B. Khamir <i>Oleaginous</i>	4
C. Lipid pada Khamir	5
D. Metode pewarnaan Sudan III.....	8
E. Identifikasi molekular khamir	9
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	10
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	10
B. Metode Penelitian	10
C. Sampel	12
D. Alat dan Bahan	12
E. Prosedur Penelitian	13
F. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
A. Isolat Khamir Asal Tuak dan Brem Bali	20
B. Skrining Kemampuan Khamir Penghasil Lipid dengan Metode Pewarnaan Sudan III.....	21
C. Skrining Kemampuan Khamir Penghasil Lipid dengan Metode NLMB (<i>Nitrogen Limited Medium Broth</i>).	23
D. Identitas dan Karakteristik Khamir asal Tuak Bali.....	25
E. Pengujian Ekstraksi Lipid Berdasarkan Optimasi Variasi pH dan Sumber Karbon	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
A. Kesimpulan	34
B. Saran	34

DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	44
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	53



DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Desain eksperimen pengaruh sumber karbon terhadap optimasi media pertumbuhan khamir.....	11
2. Nilai Persentase Lipid 3 Isolat Khamir Asal Tuak dan Brem Bali dengan nilai persentase lipid tertinggi.	23
3. Hasil BLAST isolat khamir UNJCC Y-85 berdasarkan analisis sekuen daerah D1/D2	27
4. Pengamatan Makroskopik Khamir Uji pada Medium YMA Inkubasi 30°C selama 48 jam	30
5. Pengamatan Mikroskopik Khamir Uji UNJCC Y-85 usia 48 jam	30
6. Nilai persentase lipid dengan interaksi jenis isolat, pH dan sumber karbon yang berbeda.....	31
7. Pengamatan makroskopik khamir pada medium YMA inkubasi selama 48 jam dengan suhu 28 °C.....	46
8. Skrining kualitatif khamir penghasil lipid dengan metode NLMB	48
9. Hasil uji anava tiga arah nilai persentase lipid khamir pada.....	51
10. Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) nilai persentase lipid pada setiap interaksi jenis isolat dan sumber karbon pada pH 5	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Jalur sintesis sumber karbon glukosa menjadi asam lemak TAG (Shi <i>et al.</i> , 2017).....	6
2. Jalur sintesis sumber karbon fruktosa menjadi asam lemak dan TAG (Sun <i>et al.</i> , 2012).....	7
3. Bagan alir penelitian	13
4. Hasil peremajaan dengan media YMA, inkubasi 48 jam.....	21
5. Hasil uji kualitatif pada A) <i>P. manshurica</i> ; B-E) <i>P. kudriavzevii</i>	22
6. Hasil uji kualitatif pada 4 isolat <i>S. cerevisiae</i>	22
7. Hasil uji kualitatif pada 4 isolat <i>V. victoriae</i>	22
8. Hasil uji kualitatif isolat A) UNJCC Y-85; B) UNJCC Y-90; C) UNJCC Y-92; D) UNJCC Y-93; E) UNJCC Y-96; F) UNJCC Y-106; G) UNJCC Y-107.....	23
9. Dua fase yang terbentuk saat uji kuantitatif; a) fase cair, b) fase organik	25
10. Visualisasi amplikon sekuen D1/D2 ribosomal DNA (rDNA) yang diamplifikasi dari isolat khamir asal tuak bali UNJCC Y-85	26
11. Pohon filogenetik isolat khamir UNJCC Y-85.	29
12. Karakteristik makroskopik dan mikroskopik isolat UNJCC Y-85 pada medium YMA, inkubasi suhu 28 °C selama 48 jam.....	30
13. Purifikasi khamir pada medium YMA inkubasi selama 48 jam	47
14. Kromatogram Daerah D1/D2 <i>Debaromyces hansenii</i> UNJCC Y-85 dengan primer NL1	49
15. Kromatogram Daerah D1/D2 <i>Debaromyces hansenii</i> UNJCC Y-85 dengan primer NL4	50

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Komposisi dan Pembuatan Medium	44
2. Sterilisasi Peralatan dan Medium.....	44
3. Pembuatan Suspensi Sel, <i>Working</i> , dan <i>Stock Culture</i>	45
4. Hasil Pengamatan Makroskopik dan Mikroskopik Khamir.....	46
5. Skrining kualitatif khamir penghasil lipid	48
6. Kromatogram Daerah D1/D2 Isolat <i>Debaromyces hansenii</i> UNJCC Y-85.	49
7. Perhitungan Statistik	51

