

**PENAPISAN DAN OPTIMASI PRODUKSI LIPID
KHAMIR OLEAGINOUS ASAL FERMENTASI BIJI
KAKAO DENGAN VARIASI SUMBER KARBON**

Skripsi

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains**



**Almira Marvella Priskaningrum
1308618046**

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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENAPISAN DAN OPTIMASI PRODUKSI LIPID KHAMIR OLEAGINOUS ASAL FERMENTASI BIJI KAKAO DENGAN VARIASI SUMBER KARBON

Nama
Nomor Registrasi

: Almira Marvella Priskaningrum
: 1308618046

Penanggung Jawab

Dekan

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

Nama

Tanda Tangan

Tanggal

28/08/2023

Wakil Penanggung Jawab

Wakil Dekan I

: Dr. Esmar Budi, S.Si., MT.
NIP. 19720728 199903 1 002

18/08/2023

Ketua

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

25/08/2023

Sekretaris/Penguji I

: Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si.
NIP. 19660316 199203 2 001

25/08/2023

Anggota

Pembimbing I

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

25/08/2023

Pembimbing II

: Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed.
NIP. 19790925 200604 2 002

25/08/2023

Penguji II

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

24/08/2023

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 21 Agustus 2023

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul “**Penapisan dan Optimasi Produksi Lipid Khamir Oleaginous Asal Fermentasi Biji Kakao Dengan Variasi Sumber Karbon**” 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 dari penulisan lain yang telah dipublikasikan yang disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam daftar pustaka sesuai dengan norma, kaidah, dan etika penulisan ilmiah.

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

Jakarta, 17 Juli 2023

Pembuat Pernyataan



Almira Marvella Priskaningrum



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 : Almira Marvella Priskaningrum
NIM : 1308618046
Fakultas/Prodi : FMIPA/Biologi
Alamat email : almiravella@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 :

Penapisan dan Optimasi Produksi Khamir *Oleaginous* Asal Fermentasi Biji Kakao
Dengan Variasi Sumber Karbon

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, 22 Agustus 2023

Penulis

(Almira Marvella Priskaningrum)

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim

Segala puji dan syukur senantiasa penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmat dan izin-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Penapisan dan Optimasi Produksi Lipid Khamir *Oleaginous* Asal Fermentasi Biji Kakao Dengan Variasi Sumber Karbon”. Skripsi ini disusun sebagai syarat memperoleh gelar Sarjana Sains di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Dalam proses penyelesaian skripsi ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih sedalam-dalamnya kepada Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si selaku dosen pembimbing 1 yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan banyak ilmu dan kesempatan selama masa studi penulis, serta memberi motivasi kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih kepada hibah penelitian Riset Indonesia Maju (RIM) Gelombang 3 BRIN 2023 atas nama Ibu Dalia Sukmawati dengan judul “Alternatif Ketahanan Pangan Kaya Gizi Berbasis *Black Soldier Fly (Hermetia illucens)* dan Khamir *Oleaginous* Probiotik Melalui Pendekatan Metabolomik.” dengan nomor kontrak 55/IV/KS/05/2023; Nomor: B/306/UN39.14/A.05.12/V/2023 yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan penelitian ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Ibu Ns. Sri Rahayu, S.Kep., M.Biomed, selaku pembimbing 2 yang telah membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini serta telah memberikan saran dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan proses penyusunan skripsi ini.

Kepada tim dosen penguji yaitu Ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si dan Bapak Dr. Adisyahputra, M.S yang telah memberikan banyak saran yang membangun dalam penyusunan skripsi ini; kepada Ibu Reni Indrayanti, M.Si. selaku dosen penasihat akademik yang telah membimbing dan memberi nasihat kepada penulis selama masa studi; juga kepada seluruh dosen pengajar Program Studi Biologi yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama penulis menempuh masa perkuliahan di Program Studi Biologi, penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya.

Terima kasih kepada Papa dan Mama sebagai orang tua yang selalu memberikan doa, memotivasi dan menyemangati penulis, mendukung secara materil, serta telah memberi fasilitas pendidikan dengan sangat baik sampai saat ini. Kepada adik penulis yang telah memberikan dukungan kepada penulis.

Penulis tentunya tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada Kak Leni, Kak Sayid, Kak Allika, Kak Reza, Ibu Desi dan Bapak Khadirin yang selalu berkenan membantu penulis dalam peminjaman alat dan bahan di Laboratorium. Kepada Ibu Sulis, Pak Mulyadi, dan Kak Ica selaku peneliti BRIN yang telah bermurah hati membantu penulis selama melaksanakan penelitian skripsi. Kepada Kak Kirana Anjani yang sudah berbaik hati menjawab segala pertanyaan penulis dalam merancang dan menjalankan metode penelitian.

Terima kasih penulis ucapkan kepada keluarga kecil MycoTeam. Khususnya kepada kawan seperjuangan skripsi angkatan 2018: Desty, Axel, Bella, Probo, Azizah, Nadya, Syifa, dan Nuranisa yang telah turut membersamai penulis dalam menyelesaikan skripsi, serta tidak lupa penulis berterima kasih kepada kakak-kakak MycoTeam 2017 dan adik-adik MycoTeam 2019 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Kepada kawan terdekat selama masa kuliah: Desty, Axel, Vierda, Eliz, Amel, Arinal Khu, dan Laras yang telah memberikan banyak bantuan dan semangat selama masa kuliah sehingga penulis dapat menyelesaikan masa studi. Terima kasih kepada teman-teman Biologi B 2018, *Rhizophora stylosa*, KPB *Nycticorax* UNJ, dan KSR PMI Unit UNJ yang telah memberikan banyak pengalaman dan ilmu selama penulis menjalankan masa studi di Universitas Negeri Jakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari semua pihak sangat diharapkan dan diterima dengan senang hati. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat-Nya kepada kita dalam menuntut ilmu yang berkah.

Jakarta, Juli 2023

Almira Marvella Priskaningrum

ABSTRAK

ALMIRA MARVELLA PRISKANINGRUM. Penapisan dan Optimasi Produksi Lipid Khamir *Oleaginous* Asal Fermentasi Biji Kakao Dengan Variasi Sumber Karbon. Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. Di bawah bimbingan DALIA SUKMAWATI, SRI RAHAYU.

Biolipid merupakan alternatif sumber energi di bumi dan dapat diperoleh dari mikroorganisme, salah satunya khamir. Khamir yang dapat menghasilkan lipid dengan 15% atau lebih dari berat kering selnya dikelompokkan ke dalam kategori *oleaginous*. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh khamir koleksi UNJCC yang termasuk dalam kategori khamir *oleaginous* berdasarkan penapisan secara kualitatif dengan pewarnaan Sudan III dan penapisan secara kuantitatif dengan inkubasi dalam *Nitrogen Limited Medium broth*, serta mengoptimasi perolehan persentase lipid khamir asal fermentasi biji kakao yaitu *Rhodotorula alborubescens* UNJCC Y-158, *Meyerozyma guilliermondii* UNJCC Y-159, *Pichia kudriavzevii* UNJCC Y-161 dan *Pichia scutulata* UNJCC Y-154 berdasarkan variasi sumber karbon meliputi jenis karbon (fruktosa, glukosa, sukrosa) dan konsentrasi karbon (30, 50, 70 g/L). Hasil deteksi kualitatif dengan pewarna Sudan III menunjukkan bahwa seluruh 11 khamir UNJCC asal fermentasi biji kakao memiliki potensi sebagai khamir *oleaginous*, ditandai dengan adanya warna kekuningan pada sel khamir. Berdasarkan deteksi kuantitatif diperoleh 4 dari 11 khamir UNJCC untuk uji lebih lanjut, yaitu *R. alborubescens* UNJCC Y-158, *M. guilliermondii* UNJCC Y-159, *P. kudriavzevii* UNJCC Y-161 dan *P. scutulata* UNJCC Y-154. Sementara pada uji optimasi perolehan lipid khamir dengan variasi jenis sumber karbon dan konsentrasi karbon menunjukkan bahwa secara analisis statistik perolehan persentase lipid tertinggi diperoleh *R. alborubescens* UNJCC Y-158 dengan sumber karbon glukosa pada konsentrasi karbon 30 g/L senilai $18,70 \pm 7,04\%$, *P. scutulata* UNJCC Y-154 dengan sumber karbon fruktosa pada konsentrasi 30 g/L senilai $14,21 \pm 3,22\%$, serta *P. scutulata* UNJCC Y-154 dengan sumber karbon sukrosa pada konsentrasi 30 g/L senilai $16,95 \pm 3,46\%$.

Kata kunci: Khamir, konsentrasi karbon, lipid, *oleaginous*, sumber karbon

ABSTRACT

ALMIRA MARVELLA PRISKANINGRUM. Screening and Enhancing Lipid Production of Oleaginous Yeast Isolated From Fermented Cacao Beans By Using Variation of Carbon. Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Jakarta. Under guidance of DALIA SUKMAWATI, SRI RAHAYU.

Biolipids are an alternative source of energy on earth which can be derived from microorganisms, such as yeasts. Yeasts that can synthesize lipids 15% or more of their dry cell weight are called oleaginous yeasts. The study was aimed to obtain yeasts from UNJCC that are categorized as oleaginous yeast based on qualitative screening by Sudan III staining and quantitative screening by incubation in Nitrogen Limited Medium broth, to then proceed with the optimizing the selected yeasts' lipid accumulation content namely *Rhodotorula alborubescens* UNJCC Y-158, *Meyerozyma guilliermondii* UNJCC Y-159, *Pichia kudriavzevii* UNJCC Y-161 and *Pichia scutulata* UNJCC Y-154, based on carbon source variation including carbon type (fructose, glucose, sucrose) and carbon concentration (30, 50, 70 g/L). Through applying Sudan III staining tests, it was indicated that all 11 of the UNJCC yeasts from fermented cacao beans have the potential to be oleaginous yeasts, which was supported by the presence of yellow inclusions. From the quantitative screening by incubation in Nitrogen Limited Medium, 4 yeasts, which are *R. alborubescens* UNJCC Y-158, *M. guilliermondii* UNJCC Y-159, *P. kudriavzevii* UNJCC Y-161 and *P. scutulata* UNJCC Y-154, were selected. Under variations of carbon sources type and their concentration, statistically the highest lipid concentration produced by *R. alborubescens* UNJCC Y-158 in 30 g/L glucose ($18,70 \pm 7,04\%$), *P. scutulata* UNJCC Y-154 in 30 g/L fructose ($14,21 \pm 3,22\%$), and *P. scutulata* UNJCC Y-154 in 30 g/L sucrose ($16,95 \pm 3,46\%$).

Keywords: *Carbon source, lipid, media optimization, oleaginous, yeasts*

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI | ii |
| LEMBAR PERNYATAAN | iii |
| PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| ABSTRAK | vii |
| ABSTRACT | viii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian | 3 |
| D. Manfaat Penelitian | 4 |
| | |
| BAB II KAJIAN PUSTAKA | 5 |
| A. Fermentasi Biji Kakao..... | 5 |
| B. Khamir <i>Oleaginous</i> | 6 |
| C. Lipid dan Proses Pembentukannya di Dalam Sel Khamir | 8 |
| D. Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Akumulasi Lipid..... | 11 |
| E. Deteksi Lipid Pada Khamir..... | 12 |
| | |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 15 |
| A. Waktu dan Tempat Penelitian | 15 |
| B. Metode Penelitian..... | 15 |
| C. Spesies Khamir Uji | 17 |
| D. Alat dan Bahan | 17 |
| E. Prosedur Penelitian..... | 18 |
| | |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 24 |
| A. Khamir Asal Fermentasi Biji Kakao (<i>T. cacao L.</i>) | 24 |
| B. Deteksi Khamir <i>Oleaginous</i> Secara Kualitatif | 26 |
| C. Deteksi Khamir <i>Oleaginous</i> Secara Kuantitatif | 28 |
| D. Perolehan Persentase Lipid Dengan Optimasi Berdasarkan Variasi Jenis dan Konsentrasi Sumber Karbon..... | 31 |

| | | |
|---------------------------|---------------------------|----|
| BAB V | KESIMPULAN DAN SARAN..... | 35 |
| A. | Kesimpulan | 35 |
| B. | Saran..... | 35 |
| DAFTAR PUSTAKA | 36 | |
| LAMPIRAN..... | 48 | |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP..... | 56 | |



DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| 1. Rancangan penelitian | 16 |
| 2. Hasil persentase lipid khamir asal fermentasi biji kakao pada media <i>Nitrogen Limited Medium broth</i> selama inkubasi 72 jam | 30 |
| 3. Perolehan persentase lipid berbagai spesies khamir setelah inkubasi selama 72 jam di <i>NLM broth</i> dengan variasi sumber karbon dan konsentrasi karbon..... | 33 |
| 4. Hasil berat kering khamir, berat lipid, dan persentase khamir pada penapisan khamir <i>oleaginous</i> secara kuantitatif..... | 51 |
| 5. Hasil berat kering khamir, berat lipid, dan persentase khamir dalam NLM dengan variasi jenis dan konsentrasi sumber karbon. | 52 |
| 6. Analisis deskriptif untuk persentase lipid pada tiap spesies khamir berdasarkan variasi jenis sumber karbon dan konsentrasi karbon. | 53 |
| 7. Hasil uji ANOVA tiga arah persentase lipid pada faktor jenis khamir, jenis sumber karbon dan konsentrasi karbon. | 54 |
| 8. Hasil uji DMRT untuk perolehan persentase lipid pada faktor interaksi jenis khamir, jenis sumber karbon dan konsentrasi karbon..... | 55 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| 1. Kakao (<i>Theobroma cacao L.</i>) | 5 |
| 2. Morfologi sel khamir ketika diamati secara mikroskopik..... | 6 |
| 3. Contoh berbagai struktur jenis lipid..... | 8 |
| 4. Jalur sintesis TAG pada khamir <i>oleaginous</i> | 10 |
| 5. Jalur sintesis berbagai sumber karbon menuju proses pembentukan lipid pada khamir | 12 |
| 6. Struktur molekul Sudan III | 13 |
| 7. Hasil positif sel khamir <i>oleaginous</i> yang telah diberi Sudan III..... | 13 |
| 8. Bagan alir penelitian. | 18 |
| 9. Khamir asal fermentasi biji kakao yang sudah diremajakan di media YMA.. | 25 |
| 10. Sel khamir yang sudah diberi pewarna Sudan III diamati di mikroskop dengan perbesaran 1000x..... | 27 |
| 11. Pemisahan yang terbentuk setelah penambahan kloroform:methanol (2:1) ke campuran kultur sampel-HCl..... | 29 |
| 12. Khamir yang telah diinkubasi selama 72 jam di dalam NLM broth..... | 50 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| 1. Komposisi dan pembuatan media..... | 48 |
| 2. Sterilisasi alat dan media..... | 49 |
| 3. Pembuatan <i>stock culture</i> , <i>working culture</i> , dan suspensi sel khamir..... | 49 |
| 4. Inokulum khamir pada media NLM..... | 50 |
| 5. Analisis deskriptif untuk berat kering khamir, berat lipid, dan persentase lipid khamir. | 51 |
| 6. Analisis statistik untuk persentase lipid khamir..... | 54 |

