

IDENTIFIKASI DAN UJI POTENSI KAPANG LIPOLITIK SEBAGAI PEMBELAJARAN IKUIRI

Ervina Mukharomah

Prodi Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Palembang

**email: Mukharomah.ervina@gmail.com*

ABSTRACT

This study aims to invite students to dig up information around them. So that students can reveal the information obtained by doing experiments with inquiry learning. This research has been done in 2016 in Unsri labolatorium, the result of this research found that there are 8 isolates of mold. Isolate V1 has the same characteristic as V8, isolate V2 has the same characteristics as V3, V6 and V7, whereas the isolate V4 has the same characteristic as V5. Therefore, based on the identification result, it is stated that the isolates of V1 with V8 are *Aspergillus fumigatus*, hereinafter called *Aspergillus fumigatus* (V1). Isolates of mold V2, V3, V6 and V7 are *Cylindrocladium* sp hereinafter called *Cylindrocladium* sp (V2). Isolates of mold V4 and V5 are the same isolate and identified as *Fumago* sp hereinafter called *Fumago* sp (V4).

Keywords: Inquiry Learning, Lipolithic Kapang

Pendahuluan

Pembelajaran saat ini sangat mengutamakan keaktifan siswa untuk menggali informasi dari lingkungan sekitarnya, oleh sebab itu pembelajaran yang tepat yang dipetapkan adalah model ikuri. Ismawati (2007) Pembelajaran inkuiri merupakan mengatakan “bahwa inkuiri berasal dari kata inquire yang berarti menanyakan, meminta keterangan, atau penyelidikan, dan inkuiri berarti penyelidikan. Siswa diprogramkan agar selalu aktif secara mental maupun fisik”. Materi yang disajikan guru bukan begitu saja di berikan dan diterima oleh siswa, tetapi siswa diusah akan sedemikian rupa seingga mereka memperoleh berbagai pengalaman dalam rangka menemukan sendiri konsep-konsep yang direncanakan oleh guru.

Penelitian ini menghubungkan penelitian dalam mengidentifikasi kapang Lipolitik yang berasal dari limbah pengolahan minyak kelapa sawit dengan metode pembelajaran inkuiri. Proses pengolahan kelapa sawit menjadi minyak kelapa sawit akan menghasilkan limbah dalam jumlah yang cukup besar. Untuk menghasilkan satu ton minyak kelapa sawit dihasilkan dua setengah ton limbah cair pabrik kelapa sawit. Limbah cair tersebut berasal dari proses perebusan, klarifikasi dan hidrosiklon. Salah satu proses yang paling banyak menghasilkan limbah adalah proses *bleaching*/pemucatan. Pada pemucatan *crude palm oil* (CPO)menggunakan *bleaching earth* akan

menyebabkan warna dari CPO tersebut menjadi lebih terang. Hal ini dikarenakan bentonit menyerap sebagian dari karoteid yang terkandung dari CPO dan juga minyak Hasil dari proses penjernihan minyak kelapa sawit menggunakan *Bleaching earth* ini menimbulkan limbah buangan yang menumpuk dan merusak lingkungan apabila tidak segera didegradasi (Nasution, 2004).

Mikroorganisme yang dapat menghasilkan lipase adalah bakteri, kapang, serta aktinomisetes. Kapang lebih dikenal sebagai agen produksi lipase potensial dan merupakan sumber lipase yang terbaik dan banyak dipilih untuk digunakan dalam aplikasi industri (Prमितasari dkk, 2012).

Mikroba yang bekerja dalam proses biodegradasi di lahan tercemar minyak terdiri atas beberapa jenis mikroba yang bekerja saling sinergis. Untuk itu perlu dilakukan isolasi dan identifikasi kapang *indigenous* yang dapat digunakan untuk mendegradasi lipid dalam limbah SBE. Agar pengolahan limbah SBE yang masih banyak mengandung lipid berlangsung secara efektif, maka langkah awal yang perlu dilakukan adalah mencari kapang lipolitik. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi, menguji kemampuan kapang pendegradasi lipid dan menguji sinergis antar kapang yang diambil di area pembuangan limbah. Masalah dalam penelitian ini yaitu apakah di dalam limbah pengolahan minyak kelapa sawit terdapat kapang lipolitik.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, autoklaf, buku catatan, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, *hot plate*, inkubator, jarum ose, kamera, kapas, *magnetic stirrer*, neraca analitik, kertas cakram (*paperdisk*), kertas label, pH meter, pipet sirelogis, pipet tetes, shaker, tabung reaksi, timbangan analitik, gelas ukur dan tisu gulung.

Bahan-bahan yang diperlukan yaitu aquades steril, limbah SBE dari industri minyak kelapa sawit yang berasal dari areal PT. Wilmar Sumatera Selatan, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Borth* (PDB), *Mineral medium* (MM), *Crude Palm Oil* (CPO), Indikator Bromotymol Blue, lactofenol dan alkohol 70 %.

Cara Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel limbah SBE dikoleksi di daerah industri pengolahan minyak kelapa sawit PT SAP Wilmar Group Sumatera Selatan. Pengambilan sampel limbah SBE menggunakan metode *Random sampling*. Pengambilan sampel limbah SBE diambil dengan kedalaman kurang dari 30 cm. Sampel yang telah diambil dimasukkan ke dalam kantong plastik steril yang diberi label kemudian disimpan dalam coolbox sebelum isolasi dikerjakan.

Pembuatan Media PDA

Sebanyak 39 g media PDA, masing-masing dilarutkan dalam 1000 ml aquadest di dalam erlenmeyer dan diaduk hingga merata. Kemudian dipanaskan di alat pemanas listrik (*hot plate*) yang dilengkapi *magnetic stirrer* hingga mendidih. Setelah mendidih, media dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml dan tabung reaksi ditutup dengan menggunakan kapas. Semua media yang sudah dibuat akan disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 15 lb selama 15 menit. Begitu juga dengan alat yang akan digunakan (Ganjar, 1999).

Pembuatan Media PDB (*Potato Dextrose Both*)

Ekstrak potato sebanyak 200 g dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 dimasak hingga mendidih dengan menggunakan alat pemanas listrik hingga mendidih. Selanjutnya ekstrak potato dipisahkan dengan ampasnya kemudian ditambah 20 g glukosa dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 mL dan tabung ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Medium PDB disterilkan menggunakan autoklaf sampai suhu 121°C pada

tekanan 1 atm selama 15 menit hail modifikasi dari (Munawar, 1999).

Isolasi dan Pemurnian Kapang Lipolitik

Masing-masing sampel SBE sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 45 mL medium PDB, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam dan diagitasi dengan kecepatan 150 rpm selama 7 hari atau sampai menunjukkan pertumbuhan yang dicirikan campuran CPO dan MM menunjukkan ciri berbeda seperti terdapat gelembung. Perubahan ini diamati setiap hari (modifikasi dari Munawar, 1999).

Isolasi

Masing-masing sampel dalam MM yang telah menunjukkan ciri tertentu diencerkan mulai pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} dengan cara menghomogenkan 1 mL sampel dalam MM dengan 9 mL garam fisiologis. Kemudian dari setiap pengenceran ditumbuhkan dalam medium PDA dengan metode *pour plate* dan diinkubasi 2x24 jam pada suhu 37°C sampai menunjukkan terjadinya pertumbuhan. Kemudian diamati setiap koloni kapang yang tumbuh dengan ciri berbeda metode ini merupakan modifikasi dari (Gofar, 2012).

Pemurnian

Koloni kapang dengan ciri berbeda (seperti warna, bentuk koloni, dan permukaan koloni) masing-masing di murnikan dengan cara di streak ke medium PDA dalam cawan petri, lalu diinkubasi selama 2 x 24 jam. Teknik ini dilakukan secara berulang sampai diperoleh koloni yang diindikasikan murni. Jika belum memperoleh koloni yang murni, dilakukan kembali (ulangi), hingga mendapat koloni yang murni. Koloni murni adalah koloni yang berasal dari satu sel saja. Koloni murni yang didapat diinokulasikan pada medium miring untuk mendapat isolat murni. Metode ini merupakan modifikasi dari (Gofar, 2012).

Seleksi

Isolat yang telah didapat dari hasil pemurnian diseleksi berdasarkan kemampuan bertahan hidup dan tumbuh pada media PDA yang ditambah CPO dan indikator (*Bromotymol Blue*) serta kemampuan untuk menggunakan limbah minyak tersebut, seleksi dimulai dengan pengujian dari masing-masing isolat yang dimurnikan diisolasi pada cawan petri berisi 10-15 mL PDA yang ditambah CPO dan indikator. Inokulasi dilakukan dengan meletakkan kapang pada pertengahan media. Kultur diinkubasi

pada suhu kamar selama 24 jam. Tumbuhnya koloni isolat kapang pada permukaan media yang telah dicampurkan CPO mengindikasikan bahwa isolat kapang tersebut mampu bertahan hidup dan tumbuh pada lingkungan yang mengandung CPO.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi dan Pemurnian Kapang Lipolitik

Hasil isolasi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1 menunjukkan bahwa pada pengenceran terendah terlihat paling banyak koloni yang tumbuh. Dari ciri morfologi, bentuk dan permukaan yang berbeda pada masing-masing koloni diambil dan ditentukan menjadi koloni yang berbeda. Pada

pengenceran 10^{-4} terdapat 207 koloni dan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan diberi label V1 dan V2. Pada pengenceran 10^{-5} dihitung terdapat 198 koloni yang tumbuh dan setelah dilakukan pengamatan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan diberi label V3 dan V4. Pada cawan yang berisi isolat dengan pengenceran 10^{-6} dihitung terdapat 92 koloni yang tumbuh dan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan memberi label V5 dan V6. Selanjutnya pada pengenceran terakhir 10^{-7} terdapat 87 koloni yang tumbuh dan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan diberi label V7 dan V8. Kemudian pada masing-masing isolat yang dianggap berbeda dimurnikan dengan ditanam dengan menggunakan metode gores (*steak plate*) menggunakan media PDA.

Tabel.1 Isolasi Isolat Kapang Lipolitik

Isolat	Jumlah Koloni	Koloni yang Berbeda
10^{-4}	207	2
10^{-5}	198	2
10^{-6}	92	2
10^{-7}	87	2

Hasil isolasi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1 menunjukkan bahwa pada pengenceran terendah terlihat paling banyak koloni yang tumbuh. Dari ciri morfologi, bentuk dan permukaan yang berbeda pada masing-masing koloni diambil dan ditentukan menjadi koloni yang berbeda. Pada pengenceran 10^{-4} terdapat 207 koloni dan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan diberi label V1 dan V2. Pada pengenceran 10^{-5} dihitung terdapat 198 koloni yang tumbuh dan setelah dilakukan pengamatan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan diberi label V3 dan V4. Pada cawan yang berisi isolat dengan pengenceran 10^{-6} dihitung terdapat 92 koloni yang tumbuh dan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan memberi label V5 dan V6. Selanjutnya pada pengenceran terakhir 10^{-7} terdapat 87 koloni yang tumbuh dan terdapat 2 koloni yang berbeda dengan

diberi label V7 dan V8. Kemudian pada masing-masing isolat yang dianggap berbeda dimurnikan dengan ditanam dengan menggunakan metode gores (*steak plate*) menggunakan media PDA.

Selanjutnya dilihat apabila isolat pada masing-masing cawan sudah murni yaitu di dalam 1 cawan hanya tumbuh koloni yang sama dilakukan peremajaan. Isolat kapang yang sudah murni diambil sebanyak 1 ose diinokulasikan ke dalam media PDA miring secara aseptis dengan meletakkan jarum ose yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zig-zag, selanjutnya biakan kapang diinkubasi pada suhu 35° C selama 2-7 hari. (Modifikasi Kurniawan, 2006). Biakan yang sudah tumbuh pada agar miring dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1 Isolat Kapang

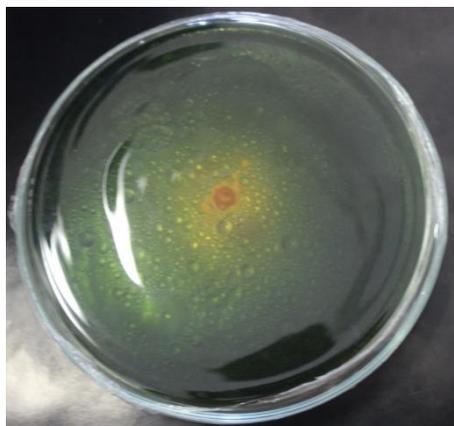
Selanjutnya setelah dilakukan peremajaan terhadap isolat kapang yang telah murni kemudian dilakukan uji seleksi. Hal ini dilakukan untuk

memperoleh kapang lipolitik. Yaitu kapang yang mampu mengubah lipid menjadi lipase dan menggunakan CPO sebagai sumber karbon.

Hasil Seleksi Isolat Kapang Lipolitik

Uji seleksi bertujuan untuk mendapat isolat kapang yang mampu memanfaatkan CPO sebagai sumber karbon. Kapang yang mampu memanfaatkan CPO berarti kapang tersebut termasuk jenis kapang lipolitik yang mampu mendegradasi daerah tercemar minyak goreng. Isolat kapang lipolitik merupakan hasil isolasi dan seleksi kapang lipolitik yang telah dilakukan sebelumnya. Isolat kapang lipolitik ini kemudian

diseleksi untuk melihat potensinya dalam mendegradasi lipid. 8 isolat kapang yang diuji ternyata semua isolat kapang mampu memanfaatkan CPO sebagai sumber karbon. Hal ini dapat dilihat pada zona kuning yang terbentuk pada sekitaran koloni yang tumbuh (Gambar 2) hal ini menunjukkan bahwa telah terbentuk lipase akibat aktivitas dari kapang lipolitik tersebut



Gambar 2 Seleksi Kapang Lipolitik

Dari 8 isolat yang sudah terseleksi selanjutnya dilakukan uji karakterisasi. Karakterisasi terdapat 2 uji. Yaitu untuk mengetahui bentuk morfologi dan mengetahui bentuk spora. Pada bentuk morfologi semua isolat memiliki

morfologi yang sama yaitu berwarna hijau, menggunung dan berkapur.

Identifikasi Kapang lipolitik

Berdasarkan karakter dari kapang lipolitik yang diperoleh dari proses karakterisasi selanjutnya

diidentifikasi berdasarkan buku *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi* (H.I. Barnett & Barry B. Hunter 2008) dan *Soil and See Fungi Morfologiies of Cutured Fungi and key to Spesies* (Watanabe Tsuneo, 2002).

PEMBAHASAN

Hasil isolasi kapang dari limbah *Spent Bleaching Earth* (SBE) diperoleh 8 isolat, dari 4 pengenceran sampel mulai dari 10^{-4} sampai 10^{-7} . Rata-rata dari masing-masing pengenceran sampel diperoleh 2 isolat kapang yang berbeda. Hal ini dapat dikatakan bahwa kapang diperoleh mulai dari pengenceran yang rendah (10^{-4}) hingga pengenceran tinggi (10^{-7}), hasil ini menunjukkan bahwa pengenceran yang dilakukan dan yang ditumbuhkan untuk proses isolasi sudah tepat. Hasil isolasi kapang ini dapat mewakili keberadaan kapang yang terdapat di dalam limbah SBE.

Isolat kapang yang diperoleh pada pengenceran 10^{-4} terdiri atas dua isolat V1 dan V2, sedangkan isolat yang diperoleh pada pengenceran 10^{-7} juga diperoleh dua isolat dengan kode V7 dan V8.

Berdasarkan karakteristik yang dimiliki baik morfologi koloni maupun morfologi sel (Tabel 4.6) isolat kapang V1 memiliki karakteristik yang sama dengan V8, isolat kapang V2 memiliki karakteristik yang sama dengan V3, V6 dan V7, sedangkan isolat kapang V4 memiliki karakteristik yang sama dengan V5. Dengan demikian berdasarkan hasil identifikasi dinyatakan bahwa isolat kapang V1 dengan V8 merupakan jenis *Aspergillus fumigatus* yang selanjutnya disebut *Aspergillus fumigatus* (V1). Isolat kapang V2, V3, V6 dan V7 merupakan *Cylindrocladium* sp yang selanjutnya disebut *Cylindrocladium* sp (V2). Isolat kapang V4 dan V5 merupakan isolat kapang yang sama dan teridentifikasi sebagai *Fumago* sp yang selanjutnya disebut *Fumago* sp (V4).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini Berdasarkan hasil isolasi, seleksi dan identifikasi kapang lipolitik dari limbah *Spent Bleaching Earth* (SBE) dapat disimpulkan bahwa Diperoleh tiga isolat kapang lipolitik dari limbah SBE dengan kode masing-masing V1, V2 dan V4 secara berurutan teridentifikasi sebagai

Aspergillus fumigatus, *Cylindrocladium* sp dan *Fumago* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Alexander, M. 1997. *Indtroduction to Soil Mikrobiology*. Secon Edition. Jhon Wiley & Sons. New York.
- [2] Azwir. 2006. Analisa pencemaran air sungai tapung kiri Oleh limbah industri kelapa sawit Pt. Peputra masterindo Di kabupaten kampar. *Tesis*. Universitas Diponogoro Semarang.
- [3] Barnett, H.I & Barry B. Hunte, B.B. 2008. *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi*. CRC Press. Boca Raton New York.
- [4] Benson, H. 2002. *Microbiological Application : Laboratory Manual in General Microbiology*. 8th Edition. Mc. Graw-Hill. North America.
- [5] Bridson. E.Y. 1998. *The Oxoid Manual*. Oxoid Limitid. England.
- [6] Gunawan, A.W., Dharmaputra, O.S., dan Rahayu, G. 2004. *Cendawan dalam Praktik Laboratorium*. IPB Press. Bogor.
- [7] Gupta, R., Rathi, P., Gupta, N. dan Bradoo, S. 2003. Lipase assay for conventional and molecular screening: an overview. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 37: 63-67.
- [8] Hariyadi, P. 2010. Sepuluh Karakter Minyak Kelapa Sawit. *Artikel*. http://seafast.ipb.ac.id/article/sepuluh_karakter_minyak_sawit.pdf. Infosawit.
- [9] Ismawati, H. 2007. Meningkatkan Aktivitas dan Hasil Belajar Sains-Fisika melalui Pembelajaran Inkuiri Terbimbing untuk Sub Pokok Bahasan Pemantulan Cahaya pada Siswa Kelas VIII SMP Negeri 13 Semarang Tahun Pelajaran 2006/2007. Skripsi, Unnes : Tidak diterbitkan.
- [10] Notodarmojo, S. 2005. *Pencemaran Tanah dan Air Tanah*. Penerbit ITB. Bandung