

# LAPORAN PENELITIAN



**Isolasi *Oleaginous Fungi* dari Lahan Gambut dan Lahan Kritis Kalimantan Selatan**

**Oleh :**

**Witiyasti Imaningsih, S.Si, M.Si  
Hasrul Satria Nur, S.Si, M.Si  
Ika Oksi Susilawati, S.Si, M.Biotech.**

**Didanai oleh:**

**DIPA-PNPB Universitas Lambung Mangkurat  
Tahun Anggaran 2016**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT  
SEPTEMBER  
2017**

# LAPORAN PENELITIAN



**Isolasi *Oleaginous Fungi* dari Lahan Gambut dan Lahan Kritis Kalimantan Selatan**

**Oleh :**

**Witiyasti Imaningsih, S.Si, M.Si  
Hasrul Satria Nur, S.Si, M.Si  
Ika Oksi Susilawati, S.Si, M.Biotech.**

**Didanai oleh:**

**DIPA-PNPB Universitas Lambung Mangkurat  
Tahun Anggaran 2016**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT  
SEPTEMBER  
2017**

## LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Isolasi *Oleaginous Fungi* dari Lahan Gambut dan Lahan Kritis Kalimantan Selatan
  
2. Ketua Peneliti
  - a. Nama Lengkap : Witiyasti Imaningsih, S.Si, M.Si
  - b. Jenis Kelamin : Perempuan
  - c. NIP : 198204132005012001
  - d. Disiplin Ilmu/ Bidang Kajian : Biologi/ Mikrobiologi
  - e. Jabatan Struktural : Sekretaris PS Biologi
  - f. Pangkat/Golongan : Penata Muda / III-c
  - g. Jabatan Fungsional : Lektor
  - h. Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
  - i. Pusat Penelitian : Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat
  - j. Alamat Rumah : Perum. Cahaya Lambung Mangkurat Asri Blok B, No. 10, Kec. Cempaka, Banjarbaru
  - k. Telpon/Faks/E-mail : 081348168106/-/imaningsih\_s@yahoo.com
3. Jangka Waktu Penelitian : 12 bulan
4. Pembiayaan : Rp 3.000.000,-



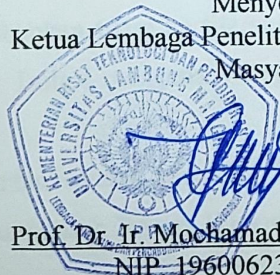
Drs. Hetti Budi Santoso, M.Si.  
NIP. 196909111994031006

Banjarbaru, September 2017

Ketua Peneliti,

Witiyasti Imaningsih, S.Si., M.Si.  
NIP. 198204132005012001

Menyetujui,  
Ketua Lembaga Penelitian Pengabdian Kepada  
Masyarakat



Prof. Dr. Ir. Mochamad Arief Soendjoto, M.Sc.  
NIP. 19600623 198801 1 001

# BAB 1 PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang

Penelitian mengenai sumber energi alternatif semakin berkembang seiring dengan perkiraan menipisnya jumlah bahan bakar fosil. Saat ini energi alternatif yang paling banyak dikaji adalah bahan bakar yang terbarukan termasuk yang berasal dari makhluk hidup. Salah satu energi alternatif yang sudah diproduksi di Indonesia adalah Bahan Bakar Nabati (BNN) atau biodiesel. Pada tahun 2016 Indonesia menjadi Negara pemproduksi Biodiesel dari minyak kelapa sawit. Terbesar didunia (Permenpan, 2016).

Produksi biodiesel dari minyak kelapa sawit memiliki efek negatif antara lain menyebabkan kerusakan hutan akibat konversi menjadi perkebunan sawit. Selain itu persaingan bahan baku untuk pangan dan energi juga mengingatkan kelapa sawit sampai sekarang digunakan sebagai bahan baku minyak goreng.

Bahan baku untuk biodiesel saat ini banyak dikembangkan dari tanaman pangan maupun non pangan, antara lain kelapa sawit, jagung, dan jarak pagar. Ketiga jenis bahan baku tersebut berasal dari tumbuhan yang memerlukan waktu yang lama dan lahan yang luas untuk menanamnya. Diperlukan alternatif pemanfaatan organisme lain untuk mengatasi hal tersebut antara lain dengan menggunakan mikroorganisme yaitu *oleagineous fungi*.

*Oleaginous fungi* adalah fungi yang mampu menghasilkan lemak. *Oleaginous organism* adalah organisme yang mampu mengakumulasi lipid hingga 20% dari biomassa keringnya. Fungi diketahui mampu mengakumulasi lipid (TAG/ Three Acil Glycerol) hingga 70% dari biomassa keringnya. Hal tersebut menyebabkan fungi berfilamen sangat potensial untuk dijadikan bahan baku biodiesel. Isolasi mengenai *oleaginous fungi* belum banyak dilakukan di Indonesia.

Kalimantan selatan memiliki karakter lingkungan yang beragam, dari lingkungan lahan basah hingga lingkungan lahan kritis. Kondisi lingkungan ini

sangat berbeda dan sangat memungkinkan menjadi habitat bagi fungi indigenous yang bersifat oleagineous.

## **B. Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *oleaginous fungi* dari habitat lahan basah dan lahan kritis Kalimantan Selatan.

## BAB. II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Biodisel

Biodisel merupakan bahan bakar yang berasal dari komponen biologis. Biodisel bisa diperoleh dari minyak nabati. Pembuatan biodiesel dari minyak nabati dilakukan dengan mengkonversi trigliserida (komponen utama minyak nabati) menjadi metil ester asam lemak, dengan memanfaatkan katalis pada proses metanolisis/esterifikasi. Beberapa katalis telah digunakan secara komersial dalam memproduksi biodiesel. Selain itu, juga diupayakan katalis dari sisa produksi alam seperti, janjang sawit, abu sekam padi dan sebagainya (Rossi, *et.al*, 2011).

Biodisel merupakan bahan bakar alternatif yang produksi dan penggunaannya harus segera direalisasikan untuk menutupi kekurangan terhadap kebutuhan BBM fosil yang semakin meningkat. Biodiesel dapat dibuat dari bermacam sumber, seperti minyak nabati, lemak hewani dan sisa dari minyak atau lemak. Biodiesel memiliki beberapa kelebihan antara lain tidak beracun dan *biodegradable* serta dapat mengurangi emisi karbon monoksida (Rossi, *et.al*, 2011)..

#### B. Oleaginous Fungi

Mikroorganisme oleaginous adalah mikroba yang mampu mengakumulasi lipid lebih dari 20% biomasanya. Beberapa spesies yeast dan kapang merupakan mikroba oleaginous, mikroba ini mampu mensintesis Tri Asil Gliserol (TAG) dalam selnya hingga 70% dari biomassa kering (Rossi *et.al.*, 2011). Dibandingkan dengan minyak dari hewan dan tumbuhan, minyak yang dihasilkan dari oleaginous fungi tidak digunakan sebagai sumber makanan dan dapat menggunakan sumber karbon yang murah untuk pertumbuhannya seperti bahan mentah yang tidak terpakai maupun produk sisa. Terlebih lagi SCO (Single Cell Oil) dari fungi memiliki siklus proses yang pendek dan produksinya tidak tergantung pada musim dan variasi siklus cuaca (Rossi *et.al.*, 2011).

Lipid pada mikroba oleagineous tersimpan dalam organel spesifik dalam sel. Organel ini berfungsi untuk menyimpan energi, selain itu juga mampu menyediakan asam lemak dan sterol untuk proses biogenesis dan pemeliharaan membrane sel.

Metabolisme lipid terjadi pada semua mikroorganisme. Namun terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan untuk mengevaluasi mikroorganisme yang potensial untuk memproduksi minyak, antara lain : 1) Jumlah minyak yang diproduksi, semakin tinggi jumlah produksi minyak maka semakin memungkinkan untuk diproduksi secara komersial, 2) kualitas minyak yang dihasilkan 3) dapat tumbuh pada substrat yang murah dan mudah diperoleh (Thevenieau dan Nicaud, 2013).

Beberapa spesies fungi yang mampu menghasilkan lipid antara lain *Aspergillus terreus*, *Claviceps purpurea*, *Tolyposporium*, *Mortierella alpina*, *Mortierella isabellina*, Sebagian besar fungi telah diketahui dapat memproduksi lipid tertentu seperti *docosahexaeneoic acid* (DHA), *gamma-linolenic acid* (GLA), *eicosapentaenoic acid* (EPA) and *arachidonic acid* (ARA) (Thevenieau dan Nicaud, 2013).

### **C. Lahan Basah Kalimantan Selatan**

Menurut konferensi Ramsar lahan basah (wetland) merupakan lahan yang secara alami atau buatan selalu tergenang. Baik secara terus menerus atau musiman, dengan air yang diam ataupun mengalir. Yang dimaksud genangan air pada lahan basah dapat berarti air laut, payau maupun tawar.

Luas Kalimantan Selatan 37.351 km<sup>2</sup> memiliki luas lahan basah mencapai 382. 272 ha. Lahan basah di Kalimantan Selatan merupakan daerah cekungan pada dataran rendah yang pada musim penghujan tergenang, dan pada musim kemarau kering. Sebagian besar lahan basah di Kalimantan Selatan berupa Rawa.

### **D. Lahan Kritis Kalimantan Selatan**

Lahan kritis adalah lahan yang tidak dapat dimanfaatkan secara optimal karena mengalami proses kerusakan fisik, kimia, maupun biologi yang pada akhirnya membahayakan fungsi hidrologi, produksi pertanian, pemukiman dan kehidupan sosial

ekonomi masyarakat. Lahan kritis juga disebut sebagai lahan marginal yaitu lahan yang memiliki beberapa faktor pembatas, sehingga hanya sedikit tanaman yang mampu tumbuh. Faktor pembatas yang dimaksud adalah faktor lingkungan yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman, seperti unsur hara, air, suhu, kelembaban dan sebagainya. Jika terdapat salah satu saja faktor pembatas pertumbuhan tanaman yang kurang tersedia, maka tanaman juga akan sulit untuk hidup (dalam keadaan tercekam) (Djunaedi, 1997).

Sejak 2007 hingga 2011 kawasan Kalimantan selatan diklasifikasi menjadi 3 bagian, yakni kawasan agak kritis 1,5 juta hectare, kawasan kritis 115 ribu hektar dan kawasan sangat kritis 54 ribu hektar. Saat ini lahan sangat kritis di Kalimantan Selatan mencapai 700 ribu hektar. Terdapat beberapa daerah yang termasuk tinggi lahan kritisnya di Kalsel, yakni Kabupaten Banjar, Tanah Laut, Tanjung dan Kotabaru (Biro Humas Setda Prov Kalsel, 2011).



### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian direncanakan dilakukan pada bulan Januari-April 2014. Pengambilan sampel dilakukan di lahan basah di daerah Gambut Kabupaten Banjar dan Bati-Bati Kabupaten tanah Laut, serta lahan kritis di daerah Cempaka Banjarbaru. Uji dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unlam Banjarbaru.

#### B. Prosedur Penelitian

##### Pengambilan Sampel

Sampel tanah yang diambil adalah 5-15 cm dari permukaan, sampel tanah kemudian dimasukkan dalam wadah steril dan disimpan pada suhu 4°C (Li, *et.al.*, 2011).

##### Pengayaan mikroba oleaginous

1 g sampel dimasukkan dalam 250 mL labu Erlenmeyer berisi 50 g medium diperkaya steril. Medium diperkaya berisi (g/L) : D-xylose 100, yeast extract 1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.75, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0.2, FeCl<sub>3</sub> 0.01, ZnCl<sub>2</sub> 0.1, pH 7.0, Rose Bengal (4,5,6-Tetrachlorofluorescein) and 3.3 mL Larutan Streptomisin (10000 U/mL). Kultur diinkubasi pada shaker inkubator selama 48 jam pada suhu 28 °C, pada kecepatan 180 rpm. Hingga diperkirakan kandungan lipid mencapai level optimum (Li, *et.al.*, 2011).

##### Seleksi dan Isolasi mikrob oleaginous

Sampel dari medium diperkaya sebanyak 1 mL diencerkan secara bertingkat dengan aquades steril, kemudian 0,1 mL dari pengenceran tersebut di sebar pada medium seleksi. Medium seleksi menggunakan medium yang tidak mengandung karbon, dengan komposisi (g/L) : yeast extract 1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0.75, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0.2, FeCl<sub>3</sub> 0.01, ZnCl<sub>2</sub> 0.1, agar 20, pH 7.0, Rose Bengal (4, 5, 6-Tetrachlorofluorescein) 3.3 mL Larutan streptomisin (10000 U/mL). Inkubasi dilakukan

pada suhu 28°C selama 1-3 hari. Fungi yang pertama kali tumbuh dan mengalami pertumbuhan tercepat adalah fungi yang diduga sebagai oleaginous fungi. Dan digunakan pada uji selanjutnya (Li, *et.al.*, 2011).

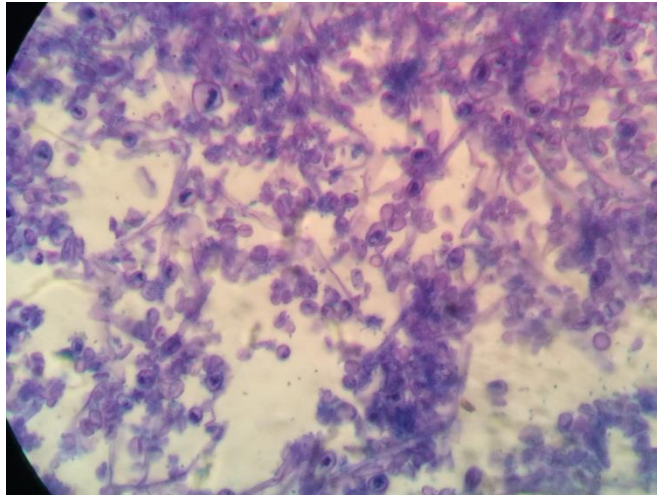
### **Metode pewarnaan Sudan Black B**

Oleaginous fungus diwarnai dengan teknik Sudan Black B dan diobservasi dibawah mikroskop dengan perbesaran terbesar. Warna biru atau abu abu menunjukkan adanya globula lemak didalam sel (Thakur, 1989) (Li, *et.al.*, 2011).

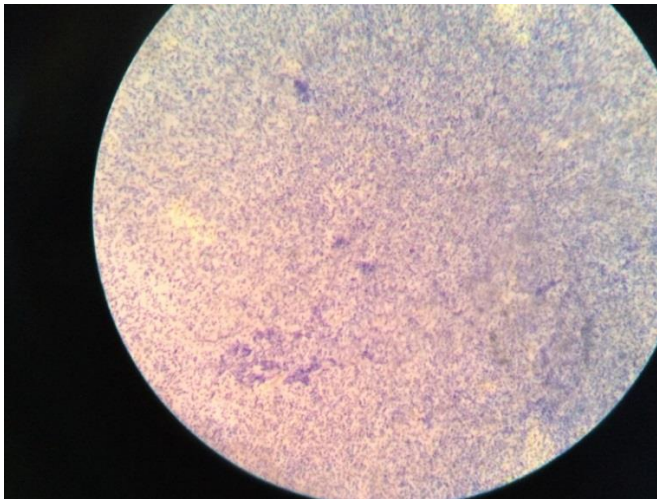
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

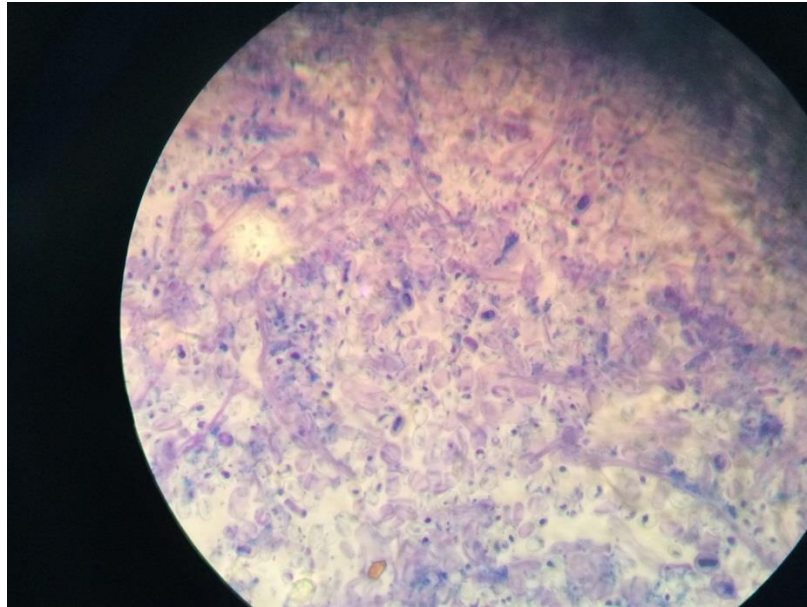
Berdasarkan prosedur yang telah dilakukan diperoleh 2 (dua) isolat yang diduga oleagineous fungi, dari kelas Hemiascomycetes, yaitu yeast (Gambar 1, 2, 3)



Gambar 1. Isolat yang diduga oleagineous fungi, isolat OFB1 perbesaran 1000x berasal dari lahan gambut daerah Bati Bati.



Gambar 2. Isolat yang diduga oleagineous fungi, isolat OFB2 perbesaran 100x berasal dari lahan gambut daerah Bati Bati.



Gambar 3. Isolat yang diduga oleagineous fungi, isolat yeast OFB 3 perbesaran 100x berasal dari lahan gambut daerah Bati Bati

Ketiga isolat berasal dari lahan gambut daerah Bati Bati Banjarbaru, sedangkan isolate dari lahan kritis belum dapat ditumbuhkan karena factor keterbatasan bahan. Berdasarkan hasil penelitian Li, dkk. (2012), oleaginous fungi di dataran tinggi Tibet bervariasi dan yang ditemukan dari daerah lahan basah sebesar 3.2 % dan merupakan genus *Cryptococcus*.

Isolat yang ditemukan di lahan gambut daerah Bati Bati belum berhasil diidentifikasi. Pada penelitian selanjutnya diharapkan isolate tersebut dapat diidentifikasi. Berdasarkan pengamatan morfologi di bawah mikroskop dugaan sementara ketiga isolat termasuk yeast.

Pengujian sifat oleaginous seharusnya dibuktikan melalui proses pewarnaan spesifik. Antara lain dengan pewarna Sudan Black (Li dkk. , 2011) dan Nile Red (Rumin dkk., 2015). Pada penelitian ini kedua jenis pewarna tersebut tidak tersedia di laboratorium sehingga belum dapat dilakukan pewarnaan lipid dalam selnya.

Keberadaan oleagineous fungi di lahan gambut sangatlah mungkin ditemukan. Lahan gambut dengan kandungan bahan organik yang tinggi menjadi habitat yang baik bagi oleagineous fungi.

## **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa telah dapat diisolasi 3 isolat yang diduga fungi oleaginous dari lahan gambut daerah Bati Bati kalimantan Selatan. Ketiganya masih belum dapat diidentifikasi, namun berdasarkan karakteristiknya diduga ketiga isolat tersebut adalah yeast.

### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai karakteristik fungi oleaginous yang ada di Kalimantan Selatan guna mendukung penelitian bidang energi terbarukan khususnya pemanfaatan mikroorganismenya.

## DAFTAR PUSTAKA

Anonym. 2007. *Bahan Bakar Nabati: antara berkah dan bencana.*-

Li, SL., SL. Feng, ZT Li, H Xu, YP Yu, DR. Qiao, Y. Cao. 2011. Isolation, identification and characterization of oleaginous fungi from the soil of Qinghai Plateau that utilize D-xylose. *African Journal of Microbiology Research Vol. 5(15) pp. 2075-2081.*

Martinez, EJ., V. Raghavan, F. Gonzales-Andres, X. Gomez. 2015. New Biofuel Alternatives: Integrating Waste Management and Single Cell Oil Production. *Int. J. Mol. Sci. 2015, 16, 9385-9405; doi:10.3390/ijms16059385.*

- Menperin. 2015. *Indonesia Produsen Utama Biodiesel*.  
<http://www.kemenperin.go.id/artikel/1903/Indonesia-Produsen-Utama-biodiesel>
- Rossi, M., A. Amaretti, S. Raimondi, A. Leonardi. 2011. Getting Lipids for Biodiesel Production from Oleaginous Fungi. *Www.intechopen.com*.
- Souza, KST., RF. Schwan, DR. Dias. 2014. **Lipid and Citric Acid Production by Wild Yeasts Grown in Glycerol**. *J. Microbiol. Biotechnol.* (2014), 24(4), 497–506  
<http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1310.10084> jmb
- Thevenieau, F. J-M. Nicaud, 2013. Getting Lipids for Biodiesel Production from Oleaginous Fungi. *OCL* 2013, 20(6) D603.