

PENKAYAAN ASAM LEMAK TAK JENUH PADA BEKATUL DENGAN CARA FERMENTASI PADAT MENGGUNAKAN *Aspergillus terreus*

Lingga Nurul Sukma, Zackiyah, Gun Gun Gumilar

Jurusan Kimia FPMIPA UPI
Jln. Setiabudhi No.229, Bandung
ukh_ayyash@yahoo.co.id

ABSTRAK

Minyak bekatul mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat potensial untuk mencegah serta mengurangi resiko penyakit arterosklerosis dan kardiovaskular. Kandungan asam lemak tak jenuh dalam minyak dapat terdegradasi pada ekstraksi menggunakan pemanasan sehingga diperlukan cara untuk menjaga dan meningkatkan kualitas asam lemak tak jenuh tersebut. Fermentasi bekatul menggunakan kapang *Aspergillus terreus* merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk meningkatkan dan memperkaya kandungan asam lemak tak jenuh pada bekatul. Penelitian ini mengkaji pengaruh variasi volume inokulum dan waktu inkubasi untuk mengetahui komposisi asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul hasil fermentasi. Untuk mengetahui komposisi asam lemak dalam minyak bekatul digunakan *Gas Chromatography Mass Spectroscopy* (GCMS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi optimum terjadi pada volume inokulum 3 mL dan waktu inkubasi 6 hari. Pada kondisi tersebut terdapat penambahan jenis asam lemak tak jenuh pada minyak bekatul yaitu asam eikosenoat (C20:1). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa metode fermentasi menggunakan *Aspergillus terreus* telah dapat meningkatkan kualitas minyak bekatul.

Kata kunci : bekatul, minyak bekatul, asam lemak, fermentasi, *Aspergillus terreus*

PENDAHULUAN

Bekatul adalah hasil samping proses penggilingan padi yang berasal dari lapisan terluar beras yaitu bagian antara butir beras dan kulit padi berwarna coklat. Bekatul mengandung minyak yang cukup tinggi sekitar 10-23%. Minyak bekatul mengandung 20% asam lemak jenuh dan 80% asam lemak tak jenuh. Kandungan asam lemak tak jenuh yang paling banyak dalam minyak bekatul adalah asam oleat dan linoleat (Most *et al.*, 2005).

Telah banyak dilaporkan bahwa asam lemak tak jenuh yang terdapat dalam minyak bekatul dapat memberikan efek hipokolesterolemik dengan menurunkan kadar kolesterol jahat (*Low Density Lipoprotein*, LDL) dalam darah dan meningkatkan kadar kolesterol baik (*High Density Lipoprotein*, HDL). Efek hipokolesterolemik yang dimiliki minyak bekatul dapat menurunkan tekanan darah sehingga mengurangi resiko penyakit arterosklerosis dan kardiovaskular (Ardiyansyah, 2008).

Mengingat banyaknya manfaat asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul, maka diperlukan perlakuan yang benar dalam pemanfaatan minyak bekatul. Pemanasan pada proses ekstraksi minyak dapat menyebabkan terdegradasinya asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul sehingga kualitas minyak menjadi turun. Oleh karena itu diperlukan

cara untuk menjaga dan meningkatkan asam lemak tak jenuh dalam bekatul.

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk meningkatkan kandungan asam lemak tak jenuh pada bekatul adalah fermentasi. Sujono (2001) melaporkan bahwa bekatul hasil fermentasi yang digunakan sebagai bahan pakan ternak dapat menurunkan kadar kolesterol dalam daging dan telur ternak. Selain itu, Jang *et al.* (2000) melaporkan bahwa fermentasi bekatul menggunakan kapang *Mortierella alpina* mampu menghasilkan asam lemak tak jenuh essensial. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa bekatul merupakan substrat yang paling efektif untuk memproduksi asam lemak tak jenuh seperti asam linoleat, asam linolenat, dan asam arakidonat.

Selain itu kapang dengan jenis tertentu seperti *Mucor*, *Mortierella*, *Rhizopus*, dan *Aspergillus* telah diketahui dapat menghasilkan asam lemak tak jenuh majemuk seperti asam gamma linolenat (GLA), asam eikosapentanoat (EPA), asam arakidonat (ARA), dan asam dokosaheksanoat (DHA) (Debby dkk., 2003).

Asam lemak essensial omega-3 baik EPA maupun DHA, serta omega-6 seperti ARA dan GLA sangat potensial digunakan sebagai makanan suplemen untuk mencegah penyakit kardiovaskular dan aterosklerosis, serta kanker, tumor, dan terhadap gangguan kesehatan lainnya (Reddy *et al.* dalam Jang *et al.*, 2000). Selain itu DHA

merupakan asam lemak yang berperan dalam kecerdasan otak dan retina (Huang et al., 2002).

Sumber asam lemak omega-3 banyak terdapat dalam minyak ikan terutama ikan laut seperti salmon dan tuna, namun banyak kendala untuk memanfaatkan produk laut seperti bau amis yang kurang disukai dan harganya yang mahal. Oleh karena itu penggunaan kapang dalam menghasilkan asam lemak esensial tersebut merupakan cara yang tepat.

Diketahui bahwa *Aspergillus terreus* mampu memproduksi lipid yang mempunyai komposisi asam lemak tak jenuh yang lebih tinggi dibandingkan dengan spesies *Aspergillus* lainnya (Ratledge, 1992). Penggunaan *Aspergillus terreus* untuk menghasilkan lipid telah dipelajari oleh Debby dkk. (2003) yang menggunakan onggok dan ampas tahu sebagai substrat. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa *Aspergillus terreus* mampu menghasilkan randemen minyak sebesar 12%.

Fermentasi bekatul menggunakan kapang *Aspergillus terreus* perlu dilakukan untuk menjaga dan memperkaya asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul. Fermentasi bekatul dilakukan dengan cara fermentasi padat pada berbagai variasi inokulum dan waktu inkubasi.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang dilakukan meliputi 4 tahap utama, yaitu persiapan kultur kapang, fermentasi bekatul, ekstraksi minyak bekatul dengan cara maserasi dan Soxhletasi, dan penentuan komposisi asam lemak dalam minyak bekatul menggunakan GCMS.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya tabung reaksi dan cawan petri, autoklaf, jarum ose, spirtus, dua perangkat alat Soxhlet, termometer, *magnetic stirrer*, botol vial, dan pemanas listrik. Alat Laminar digunakan sebagai tempat untuk inokulasi kapang pada bekatul. Alat Inkubator digunakan untuk fermentasi bekatul. Alat GCMS (Gas Chromatography Mass Spectroscopy) digunakan untuk menganalisis komposisi asam lemak minyak bekatul.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul yang diperoleh dari tempat penggilingan padi di Kab. Bandung Barat, kapang *Aspergillus terreus* (*A.terreus*) strain LIPIMC 714 yang diperoleh dari Balitbang Mikrobiologi Puslitbang Biologi-LIPI Bogor, kentang, pepton, agar, dekstrosa, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaNO_3 , KCl, n-heksan teknis, BF3-Metanol 20%, akuades steril, kertas saring, wrapping, dan aluminium foil.

Prosedur Penelitian

Pembuatan inokulum dimulai dengan membuat larutan suspensi miselia kapang. Suspensi dibuat dari 4 kultur stok. Masing-masing kultur ditambahkan 10 mL akuades, kemudian miselia kapang dikikis secara halus menggunakan ose steril hingga terkikis seluruhnya. Semua larutan suspensi miselia kapang dimasukkan ke dalam gelas kimia steril lalu diencerkan hingga 100 mL. Kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk.

Fermentasi Bekatul

Bekatul disaring terlebih dahulu dengan ukuran partikel 60 mesh. Bekatul ditimbang 20 gram dan dimasukkan ke dalam botol kemudian ditambahkan dengan sejumlah mineral, yaitu 0,1 gram KH_2PO_4 ; 0,05 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,05 gram $\text{ZnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 1 gram NaNO_3 ; 0,05 gram KCl. Setelah itu semua media fermentasi ditutup rapat dengan aluminium foil dan siap disterilisasi.

Di dalam laminar, semua media fermentasi yang telah disterilisasi ditambah akuades steril dan inokulum yang bervariasi yaitu 3 mL, 5 mL, dan 7 mL hingga a_w (*activity water*) 65% pada pH media 5-7. Apabila belum mencapai pH tersebut ditambah HCl atau NaOH, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 6 hari. Fermentasi ini dilakukan untuk menentukan volume inokulum optimum, kemudian digunakan untuk fermentasi bekatul pada variasi waktu inkubasi yaitu 4 hari, 6 hari, dan 8 hari.

Ekstraksi Minyak Bekatul dengan Maserasi

Sampel bekatul yang telah selesai difermentasi, dimaserasi dengan n-heksan selama 24 jam. Perbandingan massa bekatul dan pelarut 1 : 4. Setelah dimaserasi, ekstrak minyak dalam heksan disaring dengan corong Buchner untuk memisahkan ekstrak dari bekatul. Ekstrak minyak dalam pelarut heksan diuapkan pelarutnya menggunakan evaporator. Pelarut jernih yang tertampung kemudian dimasukkan dalam botol penampung sisa pelarut.

Analisis Komposisi Asam Lemak Pada Minyak Bekatul

Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GCMS) merupakan alat yang digunakan untuk menganalisis komposisi asam lemak yang terdapat dalam minyak bekatul. Analisis GCMS dilakukan di Laboratorium Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia UPI. Adapun kondisi GCMS yang digunakan adalah :

Suhu kolom = 60°C, Suhu Injektor = 310°C, Suhu detector = 320°C, Volume injeksi = 0,2 µL, Tekanan = 100kPa, Laju alir = 36 mL, Gas Pembawa = helium, Kolom = DB-5ms, Panjang Kolom = 30 m, dan Diameter kolom = 0,25mm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat Fisik Bekatul dan Minyak Bekatul Hasil Fermentasi

Berdasarkan pengamatan, miselia kapang mulai menyebar diseluruh permukaan media dengan warna krem kecoklatan pada hari ke-tiga inkubasi. Semakin bertambahnya waktu inkubasi, warna bekatul menjadi coklat dan coklat kehitaman pada hari ke-delapan inkubasi. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas metabolisme kapang *A.terreus* yang memanfaatkan bekatul sebagai nutrisi untuk berkembang biak. Kapang menggunakan sumber karbon dan nitrogen dari substrat bekatul untuk menghasilkan energi dan mensintesis protein serta vitamin dan mineral untuk mendukung aktivitas metabolismenya (Fardiaz, 1992).

Selain itu fisik bekatul terlihat semakin lembab dengan meningkatnya waktu inkubasi. Hal ini menunjukkan kadar air dalam bekatul meningkat dari sebelumnya. Meningkatnya kadar air selama fermentasi disebabkan kapang yang diinokulasi pada bekatul melakukan aktivitas metabolisme yang mengeluarkan uap air, sehingga mempengaruhi kadar air pada bekatul (Fardiaz, 1992).

Minyak bekatul yang dihasilkan berwarna kuning kecoklatan. Menurut Ketaren (1986), warna kuning ini disebabkan oleh pigmen karotenoid yang terdiri dari alfa dan beta karoten yang merupakan zat warna alamiah yang terdapat dalam bekatul dan ikut terekstrak bersama minyak pada proses ekstraksi. Warna kuning kecoklatan juga disebabkan oleh karotenoid yang bersifat larut dalam minyak dan miselia kapang *A.terreus* yang ikut terlarut pada proses ekstraksi. Jika dibandingkan, warna minyak bekatul tanpa fermentasi berwarna kuning cerah.

Pengaruh Variasi Volume Inokulum Terhadap Komposisi Asam Lemak Tak Jenuh Minyak Bekatul

Besarnya volume inokulum yang ditambahkan pada bekatul akan berpengaruh pada kandungan asam lemak minyak bekatul. Volume inokulum yang ditambahkan akan berpengaruh pada hasil metabolisme kapang yaitu enzim (desaturase dan elongase) yang mengkatalis pembentukan asam lemak tak jenuh dan lipid. Semakin besar volume inokulum yang ditambahkan pada bekatul kemungkinan akan menghasilkan enzim dan lipid yang lebih banyak. Namun pertumbuhan sel kapang sangat berpengaruh pada nutrisi dalam substrat. Oleh karena itu dilakukan variasi volume inokulum untuk mengetahui sejauh mana pengaruhnya

terhadap asam lemak tak jenuh yang dihasilkan pada substrat bekatul.

Fermentasi bekatul dilakukan dengan penambahan berbagai variasi volume inokulum yaitu 3 mL, 5 mL, dan 7 mL. Selain variasi tersebut, bekatul yang tidak ditambah inokulum dijadikan sebagai kontrol.

Bekatul yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu 30°C selama 6 hari. Kondisi ini berdasarkan pada penelitian Debby dkk. (2003) yang memproduksi minyak sel tunggal dari ongkok-ampas tahu menggunakan *A. terreus*. Setelah inkubasi, minyak bekatul hasil fermentasi dan kontrol diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan n-heksan. Berdasarkan hasil analisis GCMS, diketahui komposisi asam lemak dalam minyak bekatul yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelimpahan asam lemak minyak bekatul hasil fermentasi (dengan berbagai variasi inokulum) dan tanpa fermentasi berdasarkan hasil analisis GCMS.

Volume Inokulum (mL)	Kelimpahan Asam Lemak (%)					
	16:0	18:0	18:1	18:2	20:0	20:1
0 (kontrol)	8,5	-	56,92	0,38	-	-
3	27,24	2,38	15,22	44,89	1,81	1,68
5	19,13	2,54	45,5	-	1,26	1,48
7	18,03	2,5	43,15	1,68	1,14	1,39

Berdasarkan Tabel 1, terlihat persentase kelimpahan asam lemak tak jenuh pada bekatul hasil fermentasi menurun seiring meningkatnya volume inokulum. Diketahui bahwa pada bekatul yang ditambah 3 mL inokulum memiliki persentase terbesar asam linoleat (C18:2) dan asam eikosenoat (C20:1).

Semakin banyak inokulum maka semakin banyak nutrisi yang dibutuhkan. Ketika nutrisi tidak tercukupi maka kapang tidak dapat memperbanyak selnya sehingga aktivitas metabolismenya terhambat dan kapang mulai mengalami kematian. Pertumbuhan sel kapang yang terhambat menyebabkan metabolisme sel kurang sempurna sehingga menghasilkan enzim yang sedikit. Kondisi ini yang menyebabkan bekatul dengan penambahan 5 mL dan 7 mL inokulum memiliki persentase kelimpahan asam lemak tak jenuh (asam linoleat dan asam eikosenoat) lebih kecil dibandingkan yang ditambah 3 mL inokulum.

Telah dilaporkan bahwa aktivitas enzim yang dihasilkan mikroorganisme *oleaginous* akan semakin besar ketika tercukupinya sumber karbon dan nitrogen pada substrat, sehingga dapat mendukung pertumbuhan sel kapang dan metabolisme, serta dapat meningkatkan kemampuan kapang untuk menghasilkan lipid (Ratledge, 1992). Jang *et al.* (2000) mengemukakan bahwa konsentrasi karbon dan nitrogen di dalam

substrat sangat menentukan kualitas dan kuantitas lipid yang dihasilkan oleh kapang.

Berdasarkan Tabel 1, terlihat adanya penambahan jenis asam lemak yang dihasilkan dari minyak bekatul hasil fermentasi yaitu asam eikosenoat (C20:0) dan asam eikosenoat (C20:1). Terdapatnya asam eikosenoat dan asam eikosenoat pada minyak bekatul hasil fermentasi diduga karena aktivitas enzim elongase yang diekspresikan oleh kapang *A.terreus*. Enzim⁹ elongase mengkatalis perubahan asam oleat (C18:1) menjadi asam eikosenoat. Pembentukan asam eikosenoat pada minyak bekatul hasil fermentasi disebabkan adanya enzim C18/20 elongase. Enzim ini mengkatalis perubahan asam stearat (C18:0) menjadi asam eikosenoat. Perubahan terjadi karena perpanjangan rantai karbon pada asam oleat dan asam stearat dengan menambahkan dua atom karbon secara berturut-turut pada asil KoA. Adapun senyawa yang berfungsi sebagai donor unit dua atom karbon adalah malonil KoA (Anna dan Titin, 2006, Puyaubert *et al.*, 2005).

Selain itu, diketahui dari tabel 1 terdapat kelimpahan asam linoleat (C18:2) yang cukup signifikan pada bekatul yang ditambah 3 mL inokulum. Hal ini diduga akibat aktivitas¹² desaturase. Enzim tersebut mengkatalis konversi asam oleat menjadi asam linoleat. Hal ini dibuktikan dengan kecilnya persentase kelimpahan asam oleat diantara variasi inokulum lainnya. Reaksi terjadi dengan menambahkan ikatan rangkap antara karbon nomor 12 dan 13 dari asam oleat. Reaksi ini terjadi dengan bantuan oksigen dan koenzim NADH (Ratledge dan Wynn, 2002).

Secara umum minyak bekatul hasil fermentasi memiliki kandungan asam lemak tak jenuh dan jenuh yang lebih tinggi dibandingkan tanpa fermentasi. Hal ini diakibatkan kemampuan kapang *A.terreus* untuk mengakumulasi lipid. Akumulasi lipid terjadi ketika nutrisi termasuk nitrogen kecuali karbon yang terkandung di dalam substrat telah habis digunakan untuk pertumbuhan kapang, kemudian karbon (glukosa) yang berlebih diubah menjadi triasilgliserol (Ratledge dan Wynn, 2002).

Berdasarkan tingginya persentase kelimpahan asam lemak tak jenuh dan jenis asam lemak yang lengkap, maka dapat disimpulkan 3 mL inokulum merupakan volume optimum untuk fermentasi 20 gram bekatul. Sehingga 3 mL inokulum dapat digunakan untuk fermentasi bekatul berikutnya pada variasi waktu inkubasi.

Pengaruh Variasi Waktu Inkubasi Terhadap Komposisi Asam lemak Tak Jenuh dan Randemen Minyak Bekatul

Waktu inkubasi erat hubungannya dengan kesempatan mikroorganisme untuk memanfaatkan nutrisi yang tersedia pada substrat, serta efektivitas sistem metabolisme mikroorganisme dalam

memanfaatkan nutrisi tersebut. Selama masa inkubasi, kapang mengalami berbagai fase pertumbuhan. Setiap fase, jumlah sel yang dihasilkan kapang tidak sama, sehingga mempengaruhi hasil metabolismenya.

Menurut Nawangsari (1996), waktu inkubasi mikroorganisme *oleaginous* terbaik berada pada fase stasioner dan tidak boleh melebihi fase kematian. Selain itu, Sabry *et al.*(1990) juga melaporkan bahwa produksi lipid dari *Rhodotorula glutinis* meningkat pada fase stasioner. Oleh karena itu dilakukan fermentasi bekatul pada variasi waktu inkubasi untuk mengetahui sejauh mana pengaruhnya terhadap persentase asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul dan mengetahui pada hari inkubasi manakah fase stasioner terjadi.

Fermentasi bekatul dilakukan dengan penambahan 3 mL inokulum yang diinkubasi pada berbagai variasi waktu inkubasi yaitu 4, 6, dan 8 hari. Variasi waktu inkubasi yang digunakan berdasarkan pada penelitian Jang *et al.* (2000) yang melaporkan bahwa produksi asam lemak tak jenuh pada substrat padat (bekatul, gandum, dan ubi) oleh kapang *Mortierella alpina* meningkat pada 8-12 hari inkubasi, sedangkan Razavi *et al.* (2007) melaporkan bahwa produksi asam lemak dari *Sporobolomyces ruberrimus* mencapai maksimum pada waktu inkubasi 4 hari.

Setelah diinkubasi, minyak bekatul hasil fermentasi diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan n-heksan. Berdasarkan hasil analisis GCMS, diketahui komposisi asam lemak dalam minyak bekatul hasil fermentasi pada berbagai variasi waktu inkubasi yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kelimpahan asam lemak minyak bekatul hasil fermentasi (pada berbagai variasi waktu inkubasi) pada volume inokulum optimum berdasarkan hasil analisis GCMS.

Variasi Waktu Inkubasi (Hari)	Kelimpahan Asam Lemak (%)					
	16:0	18:0	18:1	18:2	20:0	20:1
4	19,97	2,41	61,11	11,7	-	0,71
6	27,24	2,38	15,22	44,89	1,81	1,68
8	19,77	4	61,83	-	1,28	1,29

Berdasarkan Tabel 2, terlihat pada bekatul yang diinkubasi selama 6 hari memiliki kelimpahan asam lemak tak jenuh yang lebih tinggi dan lebih lengkap dari variasi waktu inkubasi lainnya, yaitu asam eikosenoat (C20:1) sebesar 1,68% dan asam linoleat (C18:2) sebesar 44,89%.

Bekatul yang diinkubasi selama 6 hari memiliki persentase kelimpahan asam palmitat (C16:0) yang lebih besar dari variasi waktu inkubasi lainnya. Hal ini disebabkan kemampuan kapang yang dapat merubah glukosa menjadi lipid. Selain itu, terdapat asam stearat dengan persentase kelimpahan yang lebih rendah dibandingkan bekatul yang diinkubasi selama 4 hari. Hal ini diduga karena aktivitas 9 desaturase yang mengkatalis perubahan asam stearat menjadi asam oleat dengan menambahkan ikatan rangkap pada rantai karbon antara nomor 9 dan 10 (Ratledge dan Wynn, 2002).

Tingginya kelimpahan asam lemak tak jenuh dan jenis asam lemak yang lebih lengkap pada bekatul yang diinkubasi selama 6 hari, disebabkan besarnya aktivitas enzim yang dihasilkan oleh kapang. Diduga pada hari ke-enam inkubasi, sel kapang telah mengalami fase stasioner. Pada fase stasioner, energi yang dihasilkan tidak lagi digunakan untuk pertumbuhan sel namun digunakan

untuk pembentukan metabolit primer diantaranya biosintesis asam lemak dan enzim desaturase, elongase, dan protease. Rahman (1992) menyatakan bahwa pada fase stasioner konsumsi karbon (glukosa) dari substrat akan lebih banyak dipakai untuk pembentukan metabolit primer, diantaranya adalah biosintesis asam lemak.

Bekatul yang diinkubasi 4 hari memiliki kelimpahan asam lemak tak jenuh yang lebih tinggi dari bekatul yang diinkubasi selama 8 hari, kelimpahan terlihat pada asam linoleat. Diduga pada hari ke-empat inkubasi sel kapang mengalami fase logaritmik. Pada fase ini kapang lebih banyak menggunakan energi tersebut untuk pertumbuhan sel dan hanya sedikit untuk menghasilkan metabolit primer (enzim dan lipid), sehingga menurunkan aktivitas enzim yang mengkatalis pembentukan asam lemak tak jenuh (Rahman, 1992).

Bekatul yang diinkubasi 8 hari memiliki persentase kelimpahan asam eikosenoat dan asam linoleat yang lebih kecil dibandingkan yang lainnya. Hal ini disebabkan turunnya aktivitas enzim yang mengkatalis pembentukan asam lemak tak jenuh. Turunnya aktivitas enzim diduga karena sel kapang telah mengalami fase kematian. Fase ini terjadi dikarenakan nutrisi dalam substrat telah habis. Selain itu, terlihat fisik bekatul sangat lembab. Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan a_w yang mengakibatkan sel kapang mati karena tidak sesuai dengan kondisi hidupnya.

Waktu inkubasi pada fermentasi bekatul juga berpengaruh pada randemen minyak yang dihasilkan. Untuk mengetahui randemen minyak, bekatul diekstraksi dengan cara Soxhlet menggunakan n-heksan. Randemen minyak dari bekatul hasil fermentasi dan tanpa fermentasi ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Randemen minyak bekatul hasil fermentasi (pada volume inokulum optimum) dan tanpa fermentasi pada berbagai variasi waktu inkubasi.

Variasi Waktu Inkubasi (Hari)	Randemen Minyak Bekatul (%)	
	Hasil Fermentasi	Tanpa Fermentasi
0 (kontrol)	-	20,205
4	16,045	20,185
6	16,140	20,105
8	15,990	19,800

Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui bahwa randemen minyak bekatul hasil fermentasi lebih kecil dibandingkan bekatul tanpa fermentasi. Turunnya randemen minyak bekatul hasil fermentasi disebabkan aktivitas kapang dalam mengkonsumsi nutrisi pada bekatul seperti karbon, nitrogen, dan mineral. Nutrisi tersebut dapat menghasilkan energi yang digunakan untuk pertumbuhan dan melakukan metabolisme sel.

Telah dilaporkan bahwa lipid mensuplai karbon dengan energi yang tinggi permolnya (Leman, 1997). Kandungan asam lemak dari lipid dalam substrat dapat memberikan kontribusi 10-40% atau bahkan lebih tinggi dari total sumber karbon untuk mengubah metabolisme sel (Leman, 1997). Hal inilah kemungkinan yang menyebabkan randemen minyak bekatul hasil fermentasi lebih kecil dibandingkan bekatul tanpa fermentasi.

Rata-rata minyak yang dihasilkan dari bekatul hasil fermentasi pada berbagai variasi waktu inkubasi yaitu 16%. Randemen minyak bekatul hasil fermentasi tidak jauh berbeda dengan tanpa fermentasi yang diperoleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian (BB-Pascapanen), yang mendapatkan ekstrak minyak bekatul sebesar 14-17%. Selanjutnya randemen minyak bekatul yang dihasilkan juga memiliki randemen yang sama dengan yang dilaporkan Yunita (2007) yaitu sebesar 16%.

Pada Tabel 3, terlihat bahwa variasi waktu inkubasi berpengaruh pada randemen minyak bekatul yang dihasilkan. Randemen terbesar minyak bekatul hasil fermentasi terdapat pada bekatul yang diinkubasi 6 hari yaitu 16,14%. Hal ini juga diikuti dengan tingginya persentase asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul. Sedangkan randemen minyak terkecil terdapat pada bekatul yang diinkubasi 8 hari.

Berdasarkan tingginya persentase kelimpahan asam lemak tak jenuh (asam eikosenoat dan linoleat) dan randemen minyak yang dihasilkan, dapat disimpulkan bahwa fermentasi optimum pada waktu inkubasi 6 hari. Hal ini sesuai dengan penelitian Debby dkk. (2003) yang melaporkan bahwa produksi minyak sel tunggal dari ongkok-ampas tahu menggunakan *A.terreus* mengalami

peningkatan setelah 6 hari inkubasi yaitu di fase stasioner.

Fermentasi bekatul dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk meningkatkan kandungan asam lemak tak jenuh pada minyak bekatul. Hal ini dibuktikan dengan tingginya asam lemak esensial (asam linoleat) pada minyak bekatul hasil fermentasi yaitu 44,89%, sedangkan penelitian Parrado *et al.* (2005) diperoleh kelimpahan sebesar 36,4%. Selain itu, asam lemak tak jenuh tunggal (asam oleat) hasil fermentasi memiliki persentase kelimpahan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa fermentasi (Yunita, 2007), yaitu diperoleh kelimpahan sebesar 0,79%.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, fermentasi bekatul menggunakan *Aspergillus terreus* dapat meningkatkan dan memperkaya kandungan asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul. Seiring bertambahnya volume inokulum, kelimpahan asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul hasil fermentasi semakin menurun. Berdasarkan persentase kelimpahan asam lemak tak jenuh dan randemen minyak bekatul yang dihasilkan, fermentasi bekatul optimum pada volume inokulum 3 mL dan waktu inkubasi 6 hari. Terdapat penambahan jenis asam lemak tak jenuh dalam minyak bekatul hasil fermentasi yaitu asam eikosenoat (C20:1).

DAFTAR PUSTAKA

- Anna, P., Titin, F.M. Supriyanti. (2006). Dasar-Dasar Biokimia. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Ardiyansyah. (2008). Sehat Dan Cantik Dengan Bekatul. Inovasi Online ISSN : 0917-8376. Edisi Vol.10/XX/Maret. [Online]. Tersedia : <http://io.ppijepang.org/article.php?id=246>. (5 Maret 2009).
- Debby, M. Sumanti, Carmencita Tjahjadi, Marleen Herudiyanto, Tati Sukarti. (2003). Mempelajari Mekanisme Produksi Minyak Sel Tunggal Dengan Sistem Fermentasi Padat Pada Media Onggok-Ampas Tahu Dengan Menggunakan Kapang *Aspergillus terreus*. Laporan Penelitian Dasar. Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran.
- Fardiaz, Srikandi. (1992). Mikrobiologi Pangan. Jakarta : PAU Pangan dan Gizi IPB Bekerja Sama dengan PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Huang, Aki, Kawamoto, Shigeta, Ono, Suzuki. (2002). "Enzymatic Preparation of Glycerides Rich in Docosahexaenoic Acid from *Thraustochytrid* Single Cell Oils by *Candida rugosa* Lipase". Journal Of Oleo Science. Japan Oil Chemists Society. Vol. 51 No. 7, 447-455.
- Jang, Der Hung., Lin, Yuh Yi, Yang, Shang Shyng. (2000). "Polyunsaturated Fatty Acid Production *Mortierella alpina* by Solid Substrate Fermentation". Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei. Botanical Bulletin of Academia Sinica. Vol.41.
- Ketaren. (1986). Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Leman, J.(1997). "Oleaginous Microorganisms : An Assessment of the Potential". Advances in Applied Microbiology, Jilid 43. [Online]. Tersedia:<http://books.google.co.id/books?id=pTyQmsKsFUcC&pg=PA195&dq=jacek+Leman+lipid+accumulation&cd=1#v=onepage&q=jacek%20Leman%20lipid%20accumulation&f=false>. (17 Mei 2009).
- Most, Marlene M., Tulley, Richard., Morales, Silvia., Lefevre, Michael. (2005). " Rice bran oil, Not Fiber, Lowers Cholesterol in Humans1-3". American Journal Clinical Nutrition. Vol.81 : 64-8.
- Nawangsari, R.T. 1996. Penggunaan Berbagai Sumber Karbon dan Produksi Minyak Sel Tunggal Oleh Kapang *Mucor inaequisporus* M05II/4. Skripsi Fakultas Teknologi Hasil Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Parrado et al. (2005). "Preparation of a Rice Bran Enzymatic Extract With Potential Use as Functional Food. Journal Food Chemistry. Vol.98, 742-748.
- Puyaubert et al. (2005). "Acyl Co-A Elongase, a Key Enzyme in The Development of High Erucic Acid Rapeseed?". Abstract European Journal of Lipid Science and Technology. Vol.107,263-267. [Online]. Tersedia: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/110471025/abstract?CRETRY=1&SRETRY=0>. (8 Juni 2009).
- Rahman, A. (1992). Teknologi Fermentasi. Jakarta : Arcan.

- Ratledge, C.(1992). Microbial Oil and Fats-An Overview. [Online]. Tersedia : <http://books.google.co.id/books?id=FN1b4ErKqysC&pg=PP12&dq=Microbial+Oil+and+Fats&client=firefox-a&cd=1#v=onepage&q=Microbial%20Oil%20and%20Fats&f=false>. (5 Maret 2009).
- Ratledge, C. dan Wynn, J. (2002). Advances in Applied Microbiology, Jilid 51. [Online]. Tersedia: [http://books.google.co.id/books?id=e4mUPoH_C14C&pg=PA45&dq=Ratledge+and+Wynn+\(Lipid+Accumulation\)&cd=1#v=onepage&q=Ratledge%20and%20Wynn%20\(Lipid%20Accumulation\)&f=false](http://books.google.co.id/books?id=e4mUPoH_C14C&pg=PA45&dq=Ratledge+and+Wynn+(Lipid+Accumulation)&cd=1#v=onepage&q=Ratledge%20and%20Wynn%20(Lipid%20Accumulation)&f=false). (17 Mei 2009).
- Razavi, Seyed H., Seyed M., Hassan M., Ivan M. (2007). "Fatty Acid and Carotenoid Production by *Sporobolomyces ruberrimus* when Using Technical Glycerol and Ammonium Sulfate". *J. Microbiol. Biotechnol.* Vol.17(10), 1591–1597.
- Sabry, Ghanem, Yusef. (1990). "Some Physiological Factors Influencing Lipid Production by *Rhodotorula glutinis* from Egyptian Beet Molasses". *Journal of Islamic Academy of Sciences.* Vol. 3:4, 305-309.
- Sujono. (2001). Biar Daging Ayam Tak Berkolesterol Tinggi. [Online]. Tersedia : <http://www.majalahtrust.com/bisnis/peluang/284.php>. (4 Maret 2009).
- Yunita, Dian I. (2007). "Pengaruh Suhu Terhadap Ketahanan Asam Lemak Dalam Minyak Bekatul". Skripsi Program Studi Kimia Jurusan Pendidikan Kimia UPI