

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROBIA
PEMISAH MINYAK KELAPA SECARA FERMENTASI**
(Isolation and Characterization of coconut oil
separating microbes by fermentation)

Erni Martani dan Sebastian Margino*)

Abstract

Isolation and characterization of coconut oil separating microbes were examined. The isolates were obtained from fermentation process using crab inoculum 14 yeast isolates and 15 bacterial isolates were found. Their biochemical characterization showed that 34,5% have lipolytic activity, 17,24% have proteolytic activity, 24,14% are able to degrade lipids and proteins, and 24,12% do not able in degrading lipids not proteins.

Examination of their ability to separate coconut oil showed that single strain inoculation enhance 25,46 - 42,08% volume of refined coconut oil, and by mixed culture inoculation, volume of refined coconut oil enhance 54,62 - 98,46%.

Abstrak

Telah dilakukan isolasi dan pengujian sifat mikrobia pemisah minyak kelapa secara fermentasi di laboratorium mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM. Isolat diambil dari fermentasi dengan menggunakan inokulum ketam(yuyu). Diperoleh 14 isolat yeast dan 15 isolat bakteri. Hasil pengujian biokimia menunjukkan 34,5% isolat bersifat lipolitik dan sisanya(24,12%) tidak mempunyai kemampuan lipolitik maupun proteolitik.

Uji coba kemampuan isolat-isolat dalam memisahkan minyak kelapa secara fermentasi menunjukkan adanya kenaikan volum minyak 25,46 - 42,08 % pada inokulasi dengan kultur tunggal dan 54,62 - 98,46 % pada inokulasi dengan kultur campuran.

Pendahuluan

Minyak goreng yang merupakan salah satu kebutuhan primer rakyat Indonesia diperoleh 85% dari kelapa dan dilengkapkan dari inti sawit dan minyak jagung. (2, 12). Akhir-akhir

*)Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM Yogyakarta.

ini pemerintah giat menggalakkan penggunaan inti sawit untuk mengurangi keterbatasan minyak goreng yang berasal dari kelapa.

Komponen utama daging buah kelapa adalah protein dan lemak/minyak, di mana molekul-molekul protein menyelubungi molekul lemak (9). Komposisi lengkap dari daging buah kelapa adalah: 59,0% lemak dan minyak; 19,35 % protein; 3,5 % air; 5,92 % gula; 8,64% serat kasar dan 3,59% abu (2, 6,11).

Pembuatan minyak kelapa dapat dilakukan secara kering dan basah. Cara kering dilakukan dengan pengepresan kopra. Cara ini perlu modal tinggi dan peralatan yang rumit, sehingga cara ini ditangani oleh pabrik minyak kelapa (2, 6,11). Cara basah dapat dijalankan oleh masyarakat pedesaan, yaitu dengan memanaskan dan mengkisatkan santan buah kelapa segar hingga minyak keluar. Hasil minyak kelapanya dikenal sebagai minyak krengseng (3,9). Cara ini perlu waktu lama sehingga tidak efektif dalam waktu, tenaga dan biaya pemrosesan. Di samping kedua cara di atas, minyak kelapa dapat dibuat secara fermentasi dengan menggunakan aktifitas mikrobia.

Perbedaan pokok ketiga cara ini adalah pada cara basah dan kering molekul protein dirusak secara fisik dengan pengepresan dan pemanasan, sedang cara fermentasi molekul protein dipecah secara ensimatis oleh mikrobia sehingga minyak dapat dipisahkan.

Dalam proses fermentasi terutama diperlukan enzim proteinase (pemecah protein) dan sifat lipolitik untuk memecah lemak sampai batas tertentu karena pemecahan lemak yang berlanjut akan menimbulkan aroma yang tidak diinginkan (9).

Cara fermentasi ini mempunyai beberapa keuntungan pokok, yaitu efektifitas dalam tenaga, waktu dan biaya proses karena tidak memerlukan bahan bakar, serta tidak membutuhkan teknologi tinggi; sehingga dapat dilakukan oleh masyarakat pedesaan. Hasil minyak kelapa yang diperoleh lebih banyak dibandingkan dengan pembuatan minyak kelapa cara kering maupun basah, kualitasnya-pun tidak kalah (3, 9, 12).

Bahan dan Cara Analisis

Dalam penelitian ini digunakan beberapa bahan:

- a. Daging buah kelapa (*Cocos nucifera*), diperoleh di pasaran bebas.
- b. Ketam (yuyu^{Jw}), diambil dari sungai Winongo.

Tahap-tahap analisis yang dilakukan adalah :

1. Fermentasi kelapa dengan inokulum yuyu: Daging buah kelapa yang telah diparut diinokulasi/dicampur dengan ketam yang dihaluskan terlebih dahulu. Kemudian dimasukkan da-

lam plastik berlubang kecil-kecil dan diinkubasikan pada suhu kamar selama semalam (\pm 15 - 18 jam). Pada akhir fermentasi bahan berwarna kecoklatan dengan kadar berat kering \pm 40,5% (WB). Setelah itu bahan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 - 5 jam hingga agak kering. Kadar berat kering bahan mencapai \pm 33,5 % (WB).

Setelah tahap ini dicapai, bahan sudah dapat dipres untuk memisahkan minyak dari bahan padatnya (3, 4, 8).

2. Isolasi yeast dan bakteri: Sebagai bahan sumber isolat digunakan kelapa parutan yang telah diinokulasi dengan ketam (tahap 1,). Pengambilan sample dilakukan pada saat akhir masa inkubasi/akhir fermentasi. Media yang digunakan untuk isolasi yeast adalah media Bengale Rose Agar (BRA) ditambah dengan Oxytetracycline 10%, dan untuk isolasi bakteri digunakan media Nutrient Agar (1, 7).
3. Pengujian sifat isolat: Isolat-isolat yang diperoleh diuji sifat-sifatnya, yaitu: bentuk dan ukuran sel reaksi gram (khusus bakteri), kemampuan memfermentasi karbohidrat, daya lipolitik dan proteolitiknya (7).
4. Pengujian pemisahan minyak kelapa: Tiap isolat diuji kemampuannya dalam memisahkan minyak kelapa secara kultur tunggal (single strain), kelompok jasad (yeast atau bakteri) dan kultur campuran yeast dan bakteri (mixed culture). Sebagai pembanding digunakan hasil minyak kelapa yang diperoleh dari inokulum ketam dan tanpa inokulum. Prosedur fermentasi antara perlakuan dan pembanding sama seperti tahap 1 dengan ulangan 3 kali.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan Pengujian sifat yeast dan bakteri. Dari tahap isolasi ini diperoleh 29 isolat yang terdiri dari 14 isolat yeast dan 15 isolat bakteri. Empat belas isolat yeast berbentuk bulat sampai bulat telur dengan ukuran sel vegetatif antara 1,1 - 2,8 μ m. Tujuh di antaranya mempunyai kemampuan lipolitik, satu isolat bersifat proteolitik dan 6 isolat lainnya tidak mempunyai sifat lipolitik dan proteolitik. 45% diantara isolat yeast dapat memfermentasi karbohidrat. Hal ini dapat dilihat pada daftar I. Dari daftar II diketahui 85% isolat bakteri berbentuk kokus dengan ukuran 0,3 - 2,2 μ m, semua bersifat gram negatif sebanyak 3 isolat bersifat lipolitik, 4 isolat bakteri bersifat proteolitik dan 7 isolat memiliki kemampuan ganda (lipo-

litik dan proteolitik) sedang 1 isolat lainnya tidak dapat memecah lemak maupun protein, kebanyakan isolat bakteri dapat memfermentasi karbohidrat.

Pengujian pemisahan minyak kelapa :

Dalam daftar III dan grafik I dapat diketahui kemampuan masing-masing isolat dalam memisahkan/melepaskan ikatan minyak dari molekul-molekul protein dalam daging buah kelapa. Pemisahan ini terjadi karena adanya aktifitas enzim - enzim tertentu (proteolitik dan/atau lipolitik) yang dimiliki oleh isolat tersebut.

Pada kelapa parutan kontrol (tanpa penambahan inokulum) dapat dilihat adanya proses pemisahan minyak kelapa, meskipun hasil yang diperoleh tidak sebanyak pada perlakuan inokulasi. Diduga bahwa dalam daging buah kelapa sudah terdapat enzim-enzim yang berperan dalam proses pemisahan minyak kelapa; tetapi enzim ini kuantitas maupun kualitasnya masih belum diketahui secara optimal.

Penambahan inokulum yang dapat berupa ketam, isolat tunggal yeast atau bakteri, ataupun campuran isolat yeast dan/atau bakteri, merupakan penambahan agensia pemisah minyak kelapa. Hal ini mampu meningkatkan volum minyak kelapa yang dihasilkan tiap satuan berat kelapa parutan apabila dibandingkan dengan kontrol (lihat daftar III dan grafik I).

Kerja sama antara beberapa isolat (mixed culture) menunjukkan kecenderungan peningkatan efektifitas pemisahan minyak kelapa dibandingkan dengan kultur tunggal. Hal ini terbukti dari grafik I, penggunaan inokulum ketam, campuran isolat-isolat bakteri maupun campuran isolat-isolat yeast dan bakteri dapat meningkatkan volum minyak kelapa yang diperoleh sebanyak 54,62% - 98,46%, sedang penggunaan kultur tunggal meningkatkan 25,46% - 42,08% dari volum minyak kelapa yang diperoleh tanpa penambahan inokulum.

Dalam hal ini masih perlu penelitian lebih mendalam mengenai peranan enzim proteolitik dan lipolitik yang dimiliki oleh masing-masing isolat dalam proses pemisahan minyak kelapa secara fermentasi dengan asumsi bahwa jasad-jasad tersebut mempunyai kemampuan memisahkan secara ensimatik molekul-molekul minyak kelapa dengan molekul-molekul lain yang menyelubunginya.

Untuk mencapai tujuan pengadaan ragi pemisah minyak kelapa seperti halnya usar (ragi tempe), ragi tape dan ragi roti, perlu pemilihan strain-strain isolat berdasar sifatnya masing-masing untuk digunakan sebagai kultur campuran yang nantinya berfungsi sebagai ragi pemisah minyak kelapa.

Kesimpulan

1. Tanpa inokulasi, minyak kelapa sudah dapat dipisahkan oleh mikrobia penghuni asli dalam daging buah kelapa serta oleh adanya proses biokimia yang terjadi dalam daging buah kelapa.
2. Penggunaan inokulum secara kultur tunggal (single strain) dapat meningkatkan hasil minyak kelapa sebanyak 25,46% - 42,08%.
Penggunaan inokulum campuran (mixed culture) cenderung meningkatkan pemisahan minyak kelapa sebanyak 54,62% - 98,46%.
3. Perlu pengkajian lebih lanjut kemampuan ensimatik dari masing-masing isolat dalam memisahkan minyak kelapa secara fermentasi.
4. Perlu penelitian lebih mendalam tentang penggunaan inokulum yang berupa campuran isolat-isolat pilihan (mixed of selected isolates) untuk dipersiapkan menjadi "ragi pemisah minyak kelapa".
5. Dengan diterapkannya pembuatan/pemisahan minyak kelapa secara fermentasi oleh masyarakat luas, secara tidak langsung mengurangi ketergantungan masyarakat pada minyak goreng hasil produksi pabrik minyak kelapa.

Daftar Pustaka

1. Anonim. (1973). BBL Manual of products and laboratory procedures, BBL Division of Becton.
2. Anonim. (1979). The Philippine coconut industry. Philippine coconut Authority. Quezon City, Philippines.
3. Anonim. (1980). Minyak kelapa dengan ragi Yuyu. Tarik 4: 9-31.
4. Anonim (1983). Membuat minyak goreng dengan sistem peragiari terbaru. Balita. 26 : 27 - 29.
5. Anonim (1958). Difco manual. Difco Laboratories. Inc. Detroit, Michigan.
6. Child, R. (1974). Coconuts. nnded. Longman Group. London.
7. Jutono, et al. (1980). Pedoman praktikum mikrobiologi Umum (untuk Perguruan Tinggi). Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta.
8. Margino, St dan Erni Martani. (1984). Penelitian mikrobia penghasil minyak kelapa secara fermentasi dengan ragi yuyu (non published).
9. Setiaji, B dan Eko Sugiharto (1981). Pembuatan minyak kelapa secara fermentasi. Warta Pragizi Pangan 2 : 6 - 15

10. Sweetman, AA and J.H. Broadbent (1979). Sugar content variation of coconut prior to the manufacture of desiccated coconuts in Sri Lanka. Trop. Sci 21 : 33-38.
11. Thampan, PK. (1981). Hand book on coconut palm. Oxford & IBH Publ. Co New Delhi.
12. Weko, BH. (1980). Komoditi Sawit: Sebagai pengisi kelangkaan minyak kelapa di Indonesia selama Pelita III PT. Perkebunan VI (Persero) Pabatu. Tebing Tinggi. Deli.

Daftar I. Morfologi koloni dan sel serta sifat biokimia isolat yeast

Isolat Yeast	Morfologi koloni pada media BRA	Bentuk	Morfologi sel (m)	Aktifitas fermentasi		Aktifitas lipolitik		Aktifitas proteolitik mm zone/koloni
				glukosa asam gas	sukrosa asam gas	mm zone/koloni	mm zone/mm koloni	
Y1	Jambon suram transparan	bulat bulat telur	(1,1-1,7)x (1,7-2,2)	+	-	-	-	-
Y2	Jambon mengkilap	bulat	(1,1-1,7)x1,7	+	-	-	11,0/3,0	-
Y3	Jambon mengkilap	bulat	1,1 x 1,1	+	+	+	19,5/5,0	-
Y4	Jambon muda	bulat	1,1x(1,1-1,7)	-	-	-	-	-
Y5	putih dengan jambon ditengah	bulat	1,1x(1,1-1,7)	+	+	+	9,9/4,0	-
Y6	putih kotor	bulat	1,1x(1,7x2,2)	+	+	-	-	28,0/9,0
Y7	putih opag	bulat-bulat telur	1,7x(1,7-2,8)	+	-	-	-	-
Y8	Jambon tua mengkilap	bulat	1,1x(1,1-1,7)	+	-	-	8,2/3,0	-
Y9	Jambon mengkilap berlendir	bulat	(1,1-1,7)x1,7	+	+	+	-	-
Y10	jambon muda	bulat	1,7x(1,7 2,2)	+	-	-	9,4/3,0	-
Y11	jambon muda berlendir	bulat	1,1x(1,1-1,7)	-	-	-	-	-
Y12	jambon muda	bulat	1,7x2,8	+	-	-	12,2/4,0	-
Y13	Jambon muda berlendir	bulat	1,7x1,7	+	+	+	31,0/11,0	-
Y14	jambon tua suram	bulat	1,7x(1,7-2,2)	+	-	-	-	-

Keterangan: + = mempunyai sifat/aktif
 - = tidak aktif

Daftar II. Morfologi koloni dan sel serta sifat biokimia isolat bakteri

Isolat bakteri	Morfologi koloni pada medium Nutrient Agar	Morfologi sel	Ukuran (m)	Sifat garam	Aktivitas glukosa asam gas	fermentasi sukrosa asam gas	Aktivitas lipolitik mm koloni	Aktivitas proteolitik mm zone/ mm koloni
B1	putih transparan tak berlendir	kokus/strep-tokokus	1,1-2,2	negatif	+	+	+	10,2/2,0 -
B2	putih arborecent putar kanan	kokus/staphilokokus	0,6-1,7	negatif	-	-	-	12,9/6,0
B3	putih opak keuningan	kokus	1,1-1,7	negatif	-	-	-	9,0/4,0
B4	putih transparan merata	kokus/staphilokokus	1,1-1,7	negatif	+	+	+	11,1/8,0
B5	putih opak-suram	kokus	1,1-1,7	negatif	-	-	-	18,9/13,0
B6	putih transparan agak mengkilat	kokus	0,6-1,1	negatif	+	+	+	9,2/3,0 8,1/4,0
B7	putih transparan agak mengkilat	kokus	0,6-1,1	negatif	+	+	+	13,0/9,0 9,4/7,0
B8	putih opak merata	kokus	0,6-1,1	negatif	+	+	+	- -
B9	putih transparan mengkilat	kokus	0,6-1,1	negatif	+	-	-	21,3/14,0 9,9/5,0
B10	putih transparan mengkilat	kokus/di-plokokus	0,3-0,6	negatif	+	+	+	21,0/5,0 22,7/3,0
P1	putih transparan fluorescens	kokus/di-plokokus	0,3-0,6	negatif	-	-	-	13,3/5,0 -
P2	putih transparan opak fluorescens	kokus	0,6-0,8	negatif	+	+	+	9,1/3,0 -
P3	putih transparan fluorescens	batang pendek	0,6x(1,1-1,7)	negatif	+	+	+	21,0/7,0 8,9/7
P4	putih opak fluorescens keuningan	batang pendek kokus	0,6x(0,6-1,1)	negatif	+	+	+	20,0/9,0 9,0/7,0
P5			0,6x1,1	negatif	+	+	+	28,0/9,0 15,1/6,0

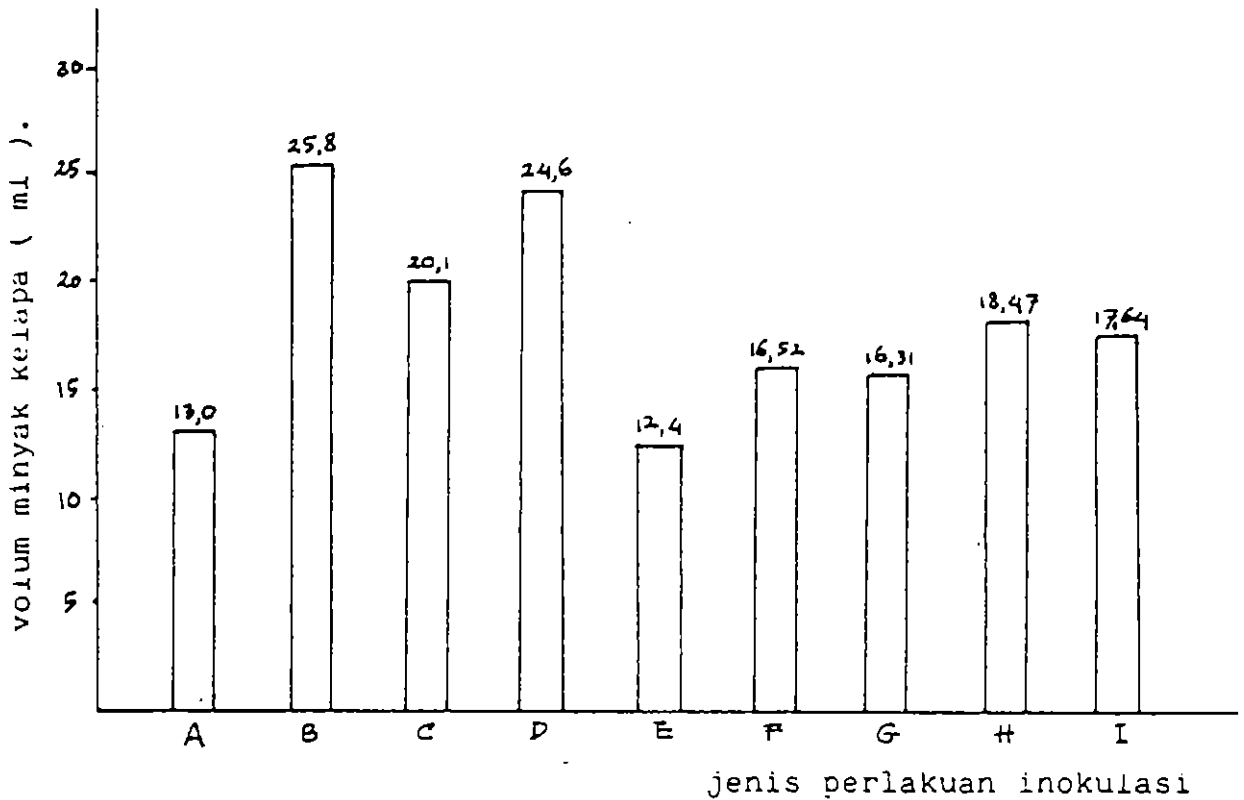
Keterangan: + = memiliki sifat/aktif ; - = tidak aktif

Daftar III. Hasil pemisahan minyak kelapa dari berbagai jenis perlakuan inokulasi

Perlakuan inokulasi	Sifat isolat	Hasil minyak kelapa (ml/100 gram daging buah kelapa)	Rata-rata hasil minyak tiap kelompok sifat	% kenaikan hasil
Kontrol	-	13,0	13,0	0
Ketam	LP	25,8	25,8	+98,46
Campuran yeast & bakt.	LP	20,1	20,1	+54,62
Campuran bakteri	LP	24,6	24,6	+89,23
Campuran yeast	LP	12,4	12,4	-4,61
Isolat B ₆	LP	15,67		
Isolat B ₇	LP	16,0		
Isolat B ₉	LP	10,5		
Isolat B ₁₀	LP	16,52	16,52	+27,08
Isolat P ₃	LP	20,75		
Isolat P ₄	LP	18,5		
Isolat P ₅	LP	18,0		
Isolat Y ₂	L	15,0		
Isolat Y ₃	L	22,0		
Isolat Y ₅	L	17,0		
Isolat Y ₈	L	18,5		
Isolat Y ₁₀	L	23,0	18,47	+42,08
Isolat Y ₁₂	L	13,75		
Isolat Y ₁₃	L	14,25		
Isolat B ₁	L	18,0		
Isolat P ₁	L	23,0		
Isolat P ₂	L	20,25		
Isolat Y ₆	P	14,3		
Isolat B ₂	P	20,0		
Isolat B ₃	P	15,5	16,31	+25,46
Isolat B ₄	P	13,0		
Isolat B ₅	P	18,75		
Isolat Y ₁	non LP	18,0		
Isolat Y ₄	non LP	16,0		
Isolat Y ₇	non LP	16,5		
Isolat Y ₉	non LP	16,0	17,64	+35,69
Isolat Y ₁₁	non LP	20,0		
Isolat Y ₁₄	non LP	17,0		
Isolat B ₈	non LP	20,0		

Keterangan: Y = kode isolat yeast
 B = kode isolat bakteri
 LP = bersifat lipolitik & proteolitik
 L = bersifat lipolitik
 P = bersifat proteolitik
 non LP = tidak bersifat lipolitik maupun proteolitik

GRAFIK I : Volum minyak kelapa yang diperoleh dari beberapa perlakuan inokulasi per 100 gram berat basah kelapa parutan



Keterangan :

- A = tanpa inokulum
- B = inokulum ketam
- C = inokulum campuran yeast dan bakteri
- D = inokulum campuran bakteri
- E = inokulum campuran yeast
- F = inokulum isolat tunggal bersifat lipolitik-proteolitik
- G = inokulum isolat tunggal bersifat proteolitik
- H = inokulum isolat tunggal bersifat lipolitik
- I = inokulum isolat tunggal bersifat non lipolitik-proteolitik