

**OPTIMASI FERMENTASI ASAM KOJAT OLEH GALUR MUTAN**

*Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10



**Lucia Suci Sulistyningrum**

**0304050406**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**DEPARTEMEN FARMASI**

**DEPOK**

**2008**

# **OPTIMASI FERMENTASI ASAM KOJAT OLEH GALUR MUTAN**

***Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10**

Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk  
memperoleh gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Lucia Suci Sulistyaningrum**

**0304050406**



**DEPOK**

**2008**

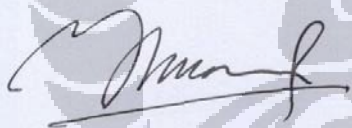
JUDUL : OPTIMASI FERMENTASI ASAM KOJAT OLEH GALUR  
MUTAN *Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10

NAMA : LUCIA SUCI SULISTYANINGRUM

NPM : 0304050406

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2008



Dr. Herman Suryadi, MS

Pembimbing I



Dr. Harmita, Apt

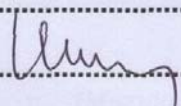
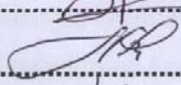
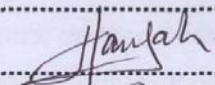
Pembimbing II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana ..... 15 Juli 2008

Penguji I : Dra. Maryati Kurniadi, MSi .....

Penguji II : Dr. Atiek Soemiati, MS.....

Penguji III : Drs. Umar Mansur, MSc.....





*Orang-orang yang menabur dengan mencururkan air mata,  
akan menuai dengan bersorak sorai.  
Orang yang berjalan maju dengan menangis sambil menabur benih,  
pasti pulang dengan sorak sorai sambil membawa berkas-berkasnya.*

*(Mazmur 126:5-6)*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya hingga terselesaikannya penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Optimasi Fermentasi Asam Kojat oleh Galur Mutan *Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10” ini. Sebagai rasa syukur, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Maksum Radji, M.Biomed selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
2. Bapak Dr. Herman Suryadi, MS selaku pembimbing I yang bersedia sabar membimbing dan mengarahkan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Bapak Dr. Harmita, Apt selaku pembimbing II yang sangat membantu dalam bimbingan, pengarahan dan proses penelitian serta penyusunan skripsi.
4. Seluruh staf pengajar dan seluruh staf sekretariat Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Mama, Papa, Lois, Anes dan Emak yang selalu memberikan dukungan dan penyertaan dalam doa dan kasih sayang serta semangat selama proses penelitian berlangsung.
6. PT Otsuka Indonesia dan PT Ristra Indolab yang bersedia membantu menyediakan bahan yang dibutuhkan.

7. Eci, Oliph, Anglia, Isabel, Dwy, Frater Lukas, Romo Yumartana, Daniel, Iwan, Kak Ambar, Kak Agus Nia dan Novi yang selalu bersedia membantu, menyertai dan mengobarkan semangat.
8. Teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Femmy, Novi, Kak QQ, Kak Renita, Kak Widya, Kak Yuyun, Arum, Ajitya, Tyas, dan Kak Lili untuk segala kebersamaan dan bantuannya selama penelitian di lab. Mbak Catur dan Mas Tri yang membantu penyediaan dan penggunaan alat-alat yang digunakan di lab.
9. Seluruh teman farmasi UI angkatan 2004 dan seluruh pihak yang telah membantu seluruh rangkaian penelitian yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak lepas dari kekurangan. Untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik yang dapat membangun untuk penyusunan selanjutnya.

Depok, Juni 2008

Penulis

## ABSTRAK

Asam kojat (5-hidroksi-2-(hidroksimetil)-1,4-piron) adalah metabolit sekunder yang banyak diproduksi oleh spesies jamur dari genus *Aspergillus*, dan *Penicillium* melalui proses fermentasi aerob. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh karakterisasi kebutuhan asam amino yang optimum, serta meningkatkan produktivitas fermentasi asam kojat oleh galur mutan *Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10 melalui optimasi aerasi. Variasi medium fermentasi dibuat dengan kombinasi lima asam amino, kemudian medium dengan asam amino terpilih dibandingkan dengan medium fermentasi minimum dan medium dengan *yeast extract*. Untuk optimasi aerasi digunakan volume medium 100 ml dalam Erlenmeyer 250 ml, dan volume medium 300 ml, 400 ml serta 500 ml dalam Erlenmeyer 1000 ml. Hasil optimasi medium menunjukkan bahwa medium dengan asam amino L-Arginine HCl menghasilkan konsentrasi asam kojat tertinggi yaitu 7,9283 g/L. Namun konsentrasi ini masih lebih rendah dibandingkan penggunaan medium dengan *yeast extract*. Optimasi aerasi menunjukkan bahwa aerasi terbaik yaitu volume 100 ml dalam Erlenmeyer 250 ml dengan konsentrasi asam kojat 7,9283 g/L.

Kata kunci : asam kojat, *Aspergillus flavus*, optimasi fermentasi

Xi + 93 halaman; gambar; tabel; lampiran

Bibliografi : 36 (1981-2007)

## ABSTRACT

Kojic acid (5-hidroxy-2-(hidroxymethyl)-1,4-pyrone) is secondary metabolite which produced in high amount by fungus species from genus *Aspergillus* and *Penicillium* through aerobic fermentation process. The aim of this study was to find characterization of optimum amino acid need and to increase productivity of kojic acid fermentation by mutant strain *Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10 by means of aeration optimization. In this study, fermentation medium variation was made with combination from five different amino acids, then the amino acid chosen was compared with minimum fermentation medium and fermentation medium that use *yeast extract*. Medium volume of 100 ml in 250 ml Erlenmeyer, medium volume of 300 ml, 400 ml and 500 ml in 1000 ml Erlenmeyer was used for the optimization of aeration. The highest production of kojic acid was showed in medium that use amino acid, L-arginine HCl, that was 7,9283 g/L. But this concentration lower than using medium with yeast extract. The optimization of aeration show that the best aeration is medium volume of 100 ml in 250 ml Erlenmyer, that produce 7,9283 g/L of kojic acid.

Key word: kojic acid, *Aspergillus flavus*, optimization of fermentation

Xi + 93 pages; figures; tables; appendixes

Bibliografi: 36 (1981-2007)



## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Fermentasi .....	4
B. <i>Aspergillus flavus</i> .....	9
C. Metabolit Sekunder .....	10
1. Asam Kojat .....	11
2. Aflatoksin .....	14
D. Kromatografi .....	16

1. Kromatografi Lapis Tipis Densitometri .....	18
E. Spektrofotometri.....	18
1. Spektrofotometri Ultra Violet-Visible.....	19
<b>BAB III BAHAN DAN CARA KERJA.....</b>	<b>21</b>
A. Bahan .....	21
1. Mikroorganisme.....	21
2. Medium dan Cara Pembuatan .....	21
3. Bahan Kimia.....	24
B. Alat .....	24
C. Cara Kerja .....	25
1. Penyiapan Inokulum dan Fermentasi Asam Kojat.....	25
2. Pemisahan Biomassa Sel dan penentuan bobot sel kering.....	29
3. Analisis kualitatif dan kuantitatif kultur fermentasi .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>34</b>
A. Hasil Percobaan .....	34
1. Penyiapan inokulum dan optimasi waktu inokulasi .....	34
2. Fermentasi tahap I .....	35
3. Analisis kuantitatif dengan KLT densitometri.....	36

4. Fermentasi dengan medium terpilih dalam volume medium 100 ml .....	37
5. Fermentasi tahap II (Variasi medium fermentasi) .....	38
6. Analisis kualitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis.....	38
7. Analisis kualitatif dengan metode spektrokolorimetri .....	39
B. Pembahasan .....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
A. Kesimpulan .....	50
B. Saran .....	50
DAFTAR PUSTAKA .....	52

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Rumus asam kojat .....	12
2. Morfologi <i>Aspergillus flavus</i> secara mikroskopik dengan perbesaran 400x .....	57
3. Konidia <i>Aspergillus flavus</i> .....	57
4. Hipotesis jalur biosintesis asam kojat .....	58
5. Rumus struktur aflatoksin .....	16
6. Koloni <i>Aspergillus flavus</i> berumur 7 hari .....	59
7. Koloni <i>Aspergillus flavus</i> galur NTGA7A4UVE10 berumur 7 hari dalam agar miring pada tabung reaksi .....	60
8. Biomaasa sel berbentuk pellet dalam tabung reaksi setelah diinkubasi pada suhu 28 <sup>o</sup> C selama 12 hari dengan pengocokan 180 rpm .....	60
9. Hasil skrinning asam kojat dengan FeCl <sub>3</sub> 1% pada tahap fermentasi I. ....	61
10. Spektrum serapan standar asam kojat menggunakan KLT densitometer. Eluen=toluene-etil asetat-asam format (3:6:1) .....	63
11. Densitogram standar asam kojat 504,0 ppm (Rf=0,30). Panjang gelombang 326 nm, eluen=toluene-etil asetat-asam format (3:6:1). ....	63
12. Kurva kalibrasi asam kojat dengan persamaan regresi linear $y = 1503,303378 + 14,31025567$ .....	64
13. Densitogram sampel asam kojat dalam medium fermentasi minimum + asam amino L-Arginine HCl (Rf=0,30). Panjang gelombang 312 nm, eluen=toluene-etil asetat-asam format (3:6:1) .....	64
14. Hasil skrinning asam kojat dengan FeCl <sub>3</sub> 1% pada fermentasi dalam 100 ml medium, dilakukan duplo .....	65

15. Biomassa sel berbentuk pellet dalam Erlenmeyer 100 ml setelah inkubasi pada suhu 28 <sup>0</sup> C selama 12 hari pada proses fermentasi tahap II. ....	65
16. Filtrat hasil fermentasi dalam volume medium 500 ml setelah penyaringan.....	66
17. Hasil skrinning asam kojat dengan FeCl <sub>3</sub> 1% pada fermentasi tahap II, dilakukan duplo .....	66
18. Spektrum serapan spektrofotometri UV dari standar asam kojat konsentrasi 25,20 ppm. Panjang gelombang maksimum 268 nm dengan serapan 1,35349.....	67
19. Perbandingan spektrum serapan spektrofotometri UV standar asam kojat 25,20 ppm dengan sampel asam kojat hasil fermentasi tahap II ..	67
20. Spektrum serapan spektrokolorimetri dari standar asam kojat konsentrasi 104,0 ppm. Panjang gelombang maksimum 493 nm dengan serapan 0,67327.....	68
21. <i>Orbit shaker</i> yang digunakan untuk fermentasi tahap I .....	68
22. Oven untuk mengeringkan peralatan sebelum disterilisasi.....	69
23. Oven untuk mengeringkan peralatan setelah disterilisasi.....	69
24. <i>Sentrifuge</i> [Kubota 5100].....	70
25. <i>Hood</i> .....	70
26. Spektrofotometer UV/Vis [Jasco V-530] .....	71

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Data bobot sel kering pada optimasi waktu inokulasi.....	72
2. Data pengamatan biomassa sel dan hasil skrinning dengan FeCl <sub>3</sub> 1% dari fermentasi tahap I setelah 12 hari .....	73
3. Data kurva kalibrasi asam kojat secara KLT densitometri .....	75
4. Data konsentrasi asam kojat dari fermentasi tahap I secara KLT densitometri .....	76
5. Data bobot sel kering dan hasil skrinning dengan FeCl <sub>3</sub> 1% dari fermentasi pada volume medium 100 ml .....	78
6. Data konsentrasi asam kojat dari fermentasi pada volume medium 100 ml menggunakan sumber nitrogen yang berbeda secara KLT densitometri .....	79
7. Data volume filtrate hasil fermentasi tahap II setelah penyaringan .....	80
8. Data konsentrasi asam kojat dari fermentasi tahap II secara KLT densitometri .....	81
9. Data spektrofotometri UV asam kojat hasil fermentasi tahap II .....	82

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Alur Cara Kerja.....	83
2. Perhitungan konsentrasi asam kojat dalam kultur fermentasi .....	84
3. Keterangan Medium Fermentasi tahap I .....	85
4. Sertifikat analisis asam kojat.....	87
5. Sertifikat analisis L-Tryptophan.....	89
6. Sertifikat analisis L-Arginine HCl.....	90
7. Sertifikat analisis L-Lysine HCl.....	91
8. Sertifikat analisis L-Glutamic Acid.....	92
9. Sertifikat analisis L-Valine.....	93