



KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
REPUBLIK INDONESIA  
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL  
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 8-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940  
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611  
Laman: <http://www.dgip.go.id> Surel: [dopatent@dgip.go.id](mailto:dopatent@dgip.go.id)

Nomor : HKI.3-HI.05.01.03.2018/S/00026  
Lampiran : -  
Hal : Pemberitahuan Permohonan Paten Telah Diumumkan

Jakarta, 15 Januari 2018

Yth. Mohammad Isrok, S.H.  
Joyogrand E1-19, 65144, Malang

Dengan ini diberitahukan bahwa Permohonan Paten:

Tanggal Pengajuan : 03 Oktober 2017  
(21) Nomor Permohonan : SID201706735  
(71) Pemohon : drh. Ciclia Novi Primiani, M.Pd dan Pujiati, S.Si., M.Si  
(54) Judul Invensi : PROSES PENINGKATAN KADAR MINYAK KACANG GUDE  
DENGAN PROSES FERMENTASI OLEH KAPANG *Aspergillus niger*  
(30) Data Prioritas :  
(74) Konsultan HKI : Mohammad Isrok, S.H.  
(22) Tanggal Penerimaan : 02 Oktober 2017

telah diumumkan pada tanggal: **12 Januari 2018** dengan nomor publikasi: **2018/S/00026**.

Sehubungan dengan ketentuan yang diatur dalam undang-undang tentang Paten, saudara dapat mengajukan permohonan pemeriksaan substantif Paten Sederhana paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal penerimaan permohonan paten sederhana sebagaimana tersebut di atas. Tidak diajukannya permohonan substantif paten sederhana dimaksud dalam waktu yang ditentukan tersebut akan mengakibatkan permohonan paten ini dianggap ditarik kembali. Apabila telah dilakukan pembayaran maka informasi ini diabaikan.

Demikian untuk diketahui.



ID-2018-7953



a.n. Direktur Paten, Desain Tata Letak  
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang  
Kasubdit Permohonan dan Publikasi,

Ir. Arif Syamsudin, S.H., M.Si.  
NIP. 196303021987111001

Tembusan:  
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual.

**FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN PATEN INDONESIA**  
**APPLICATION FORM OF PATENT REGISTRATION OF INDONESIA**

<b>Data Permohonan (Application)</b>			
Nomor e-Filing <i>Number of e-Filing</i>	: WFP2017016111	Tanggal Permohonan <i>Date of Submission</i>	: 2017-10-02
Nomor Permohonan <i>Number of Application</i>	: SID201706735	Jumlah Klaim <i>Total Claim</i>	: 1
Jenis Permohonan <i>Type of Application</i>	: Paten Sederhana Non UMKM	Jumlah Halaman <i>Total Page</i>	: 10
Judul <i>Title</i>	: PROSES PENINGKATAN KADAR MINYAK KACANG GUDE DENGAN PROSES FERMENTASI OLEH KAPANG <i>Aspergillus niger</i>		
Abstrak <i>Abstract</i>	: Abstrak		
<p style="text-align: center;">PROSES PENINGKATAN KADAR MINYAK KACANG GUDE DENGAN PROSES FERMENTASI OLEH KAPANG <i>Aspergillus niger</i></p> <p>Permasalahan teknis yang dipecahkan dalam invensi ini adalah bagaimana menyediakan suatu cara berupa proses peningkatan kadar minyak kacang gude (<i>Cajanus cajan</i>) dengan proses fermentasi menggunakan kapang <i>Aspergillus niger</i>. Jalan keluar dari masalah tersebut adalah suatu proses dengan tahapan sesuai invensi ini yakni:</p> <p>a) pembuatan Media untuk Fermentasi Padat Kacang Gude berupa campuran serbuk halus kacang gude dengan air perbandingan 50gr dan 75 ml yang disterilisasikan menggunakan autoklaf pada suhu 1210C selama 30 menit;</p> <p>b) pembuatan starter kultur <i>Aspergillus niger</i>, dengan mensuspensikan secara aseptis spora kapang <i>Aspergillus niger</i> pada tabung miring dengan 500 air fisiologis secara bertahap, dalam 500 air fisiologis mengandung 10 g glukosa, 1,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,75 g MgSO<sub>4</sub>;</p> <p>c) proses fermentasi padat (Solid State Fermentation) Substrat steril diinokulasikan starter kultur A</p>			

<b>Permohonan PCT (PCT Application)</b>			
Nomor PCT <i>PCT Number</i>	:	Nomor Publikasi <i>Publication Number</i>	:
Tanggal PCT <i>PCT Date</i>	:	Tanggal Publikasi <i>Publication Date</i>	:

<b>Pemohon (Applicant)</b>		
<b>Nama (Name)</b>	<b>Alamat (Address)</b>	<b>Surel/Telp. (Email/Phone)</b>
drh. Ciclia Novi Primiani, M.Pd	Perum Taman Salak Blok B/109 RT.051 RW.017, Kelurahan Pandean, Kecamatan Taman, Madiun, 63133, Indonesia	primiani@unipma.ac.id 081556541989
Pujiati, S.Si., M.Si	Belotan, No RT = 43, No RW = 15 kelurahan Belotan, Kecamatan Bendo, Magetan, 63384, Indonesia	pujiati@unipma.ac.id 08113349586

<b>Penemu (Inventor)</b>		
<b>Nama (Name)</b>	<b>Alamat (Address)</b>	<b>Surel/Telp. (Email/Phone)</b>
drh. Ciclia Novi Primiani, M.Pd	Perum Taman Salak Blok B/109 RT.051 RW.017, Kelurahan Pandean, Kecamatan Taman, Madiun, 63133,	primiani@unipma.ac.id 081556541989

	Indonesia	
Pujiati, S.Si., M.Si	Belotan, No RT = 43, No RW = 15 kelurahan Belotan, Kecamatan Bendo, Magetan, 63384, Indonesia	pujiati@unipma.ac.id 08113349586

<b>Data Prioritas (Priority Data)</b>		
<b>Negara (Country)</b>	<b>Nomor (Number)</b>	<b>Tanggal (Date)</b>

<b>Kuasa/Konsultan KI (Representative/IP Consultant)</b>		
<b>Nama (Name)</b>	<b>Alamat (Address)</b>	<b>Surel/Telp. (Email/Phone)</b>
Mohammad Isrok, S.H.	Joyogrand E1-19, Malang, 65144, Indonesia	m.isrok@gmail.com 081233991006

<b>Lampiran (Attachments)</b>
Fotokopi KTP Surat Kuasa Surat Pernyataan Kepemilikan Deskripsi Klaim

Jakarta, 2017-10-02  
Pemohon / Kuasa  
*Applicant / Representative*

Tanda tangan / Signature  
Nama lengkap / Full Name *Mohammad Isrok, S.H.*

## KTP PEMOHON

PROVINSI JAWA TIMUR  
KOTA MADIUN

**NIK : 3577036711690002**

Nama : CICILIA NOVI PRIMIANI,  
drh., M.Pd.

Tempat/Tgl Lahir : YOGYAKARTA  
27-11-1969

Jenis kelamin : PEREMPUAN Gol. Darah : B

Alamat : PERUM TAMAN SALAK  
BLOK B/109

RT/RW : 051/017

Kel/Desa : PANDEAN

Kecamatan : TAMAN

Agama : KATHOLIK

Status Perkawinan: KAWIN

Pekerjaan : DOSEN

Kewarganegaraan: WNI

Berlaku Hingga : SEUMUR HIDUP



KOTA MADIUN  
04-10-2016





**PEMERINTAH KABUPATEN MAGETAN**  
**DINAS KEPENDUDUKAN DAN PENCATATAN SIPIL**  
Jl. Raya Magetan - Madiun Km 4.5 Telp. (0351) 895195 Fax. (0351) 895195 Kode Pos 63391  
**MAGETAN**

**SURAT KETERANGAN**

Nomor : 470/ \110 /403.111/2017

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : **Drs. HERMAWAN, M.Si**  
NIP : **19660320 198602 1 003**  
Jabatan : Kepala Dinas Kependudukan dan Pencatatan Sipil Kabupaten Magetan  
Alamat : Jl. Raya Magetan-Madiun Km 4.5 Telp. (0351) 895195 Magetan

Menerangkan bahwa :

NIK : **3520105506860002**  
Nama : **PUJIATI**  
Tempat, Tanggal Lahir : **MAGETAN, 15-06-1986**  
Jenis Kelamin : **PEREMPUAN**  
Alamat : **BELOTAN , NO RT = 43, NO RW = 15**  
Desa / Kelurahan : **BELOTAN**  
Kecamatan : **BENDO**  
Kabupaten : **MAGETAN**  
Agama : **ISLAM**  
Status Perkawinan : **KAWIN**  
Pekerjaan : **DOSEN**  
Kewarganegaraan : **WNI**



Penduduk tersebut di atas benar-benar sudah melakukan perekaman KTP-el dan penduduk yang bersangkutan telah terdata dalam Database Kependudukan Kabupaten/Kota Magetan.

Demikian Surat Keterangan ini kami buat sebagai pengganti KTP-el, dipergunakan untuk kepentingan Pemilu, Pilkkada, Pilkadaes, Perbankan, Imigrasi, Kepolisian, Asuransi, BPJS, Pernikahan, dan lain-lain, dan kepada yang berkepentingan agar menjadi maklum.

Surat Keterangan ini berlaku selama 6 (enam) bulan sejak diterbitkan

Magetan , 11-04-2017

Pemohon

**PUJIATI**

**Kepala Dinas Kependudukan dan  
Pencatatan Sipil Kabupaten Magetan**



## SURAT KUASA

Yang bertandatangan di bawah ini :

**drh. Cicilia Novi Primiani, M.Pd**, warga negara Indonesia dengan NIK 3577036711690002, bertempat tinggal di Perum Taman Salak Blok B/109 RT.051 RW.017, Kelurahan Pandean, Kecamatan Taman, Kota Madiun, Jawa Timur.

**Pujiati, S.Si., M.Si**, warga negara Indonesia dengan NIK 3520105506860002, bertempat tinggal di Belotan, No RT = 43, No RW = 15 kelurahan Belotan, Kecamatan Bendo, Kabupaten Magetan, Jawa Timur

dengan ini memberi kuasa dengan hak substitusi kepada :

MOHAMMAD ISROK, SH. Konsultan HKI No. 622-2012, dan

SOFYAN ARIEF, SH, Konsultan HKI, No. 644-2012

**Dari Kantor Sentra HKI Universitas Muhammadiyah Malang**, Beralamat di Jalan Raya Tlogomas No. 246, Malang, Indonesia

Baik sendiri-sendiri maupun bersama-sama

### Khusus

Untuk mengajukan permohonan dan pengurusan paten sederhana di Indonesia baik secara elektronik (online) maupun non elektronik (manual) untuk mendapatkan Paten Sederhana di Indonesia, dan atas nama kuasa, yang berjudul:

**PROSES PENINGKATAN KADAR MINYAK KACANG GUDE DENGAN PROSES FERMENTASI OLEH KAPANG *Aspergillus niger***

**Dengan inventor : 1. drh. Cicilia Novi Primiani, M.Pd**

**2. Pujiati, S.Si., M.Si**

**Dalam menjalankan pengurusan tersebut di atas, penerima kuasa berwenang sebagai berikut:**

1. Untuk memberi kekuasaan kepada Direktorat Paten guna memohon keterangan dari pejabat-pejabat yang berwenang di luar negeri tentang negara-negara mana dan waktu-waktu mana telah dimasukkan permohonan paten untuk penemuan yang sama, juga tentang keberatan – keberatan apapun yang telah diajukan atas penemuan itu.
2. Untuk membuat, menandatangani, memasukkan, memperbaiki, memisah, menambah, dan menarik kembali dokumen-dokumen yang dibutuhkan.
3. Untuk hadir jika dipanggil dimana perlu, untuk memohon banding dengan memasukkan memori keberatan apabila telah ditetapkan untuk seluruhnya atau sebagian tidak mengumumkan permintaan, atau apabila paten yang telah dimohon seluruhnya atau sebagian tidak diberikan atau diberikan dengan perubahan bentuknya.
4. Untuk membalas permohonan – permohonan, perlawanan – perlawanan serta memori keberatan yang diajukan oleh pihak ketiga, selanjutnya melaksanakan segala pembayaran – pembayaran yang menurut peraturan paten dapat ditarik dari yang bertandatangan ini dan untuk menerima segala surat-surat dari Direktorat Paten yang ditujukan kepadanya, yaitu untuk melakukan segala sesuatu yang dapat atau harus dilakukan oleh yang bertandatangan di bawah ini sendiri, demikian pula dengan hak untuk melimpahkan kepada pihak ketiga, dengan tunduk kepada hukum dengan mendapat honor.

Pemohon memilih kedudukan atau domisili di alamat kuasanya tersebut di atas.



Penerima Kuasa

**Mohammad Isrok, SH.**

Konsultan HKI No. 622-2012

**Sofyan Arief, SH., M.Kn**

Konsultan HKI No. 644-2012

Malang, 9 Agustus 2017

Pemberi Kuasa



**drh. Cicilia Novi Primiani, M.Pd**

**Pujiati, S.Si., M.Si**

## SURAT PERNYATAAN KEPEMILIKAN INVENSI (OLEH INVENTOR)

Yang bertanda tangan di bawah ini :

	Nama Inventor	Alamat Lengkap, (email jika ada) dan Kewarganegaraan
1.	drh. Cicilia Novi Primiani, M.Pd	Perum Taman Salak Blok B/109 RT.051 RW.017, Kelurahan Pandean, Kecamatan Taman, Kota Madiun, Jawa Timur.
2.	Pujiati, S.Si., M.Si	Belotan, No RT = 43, No RW = 15 kelurahan Belotan, Kecamatan Bendo, Kabupaten Magetan, Jawa Timur

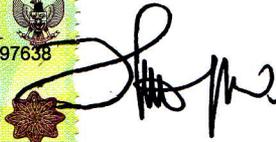
Dengan ini kami/saya menyatakan bahwa, Invenisi yang berjudul: **PROSES PENINGKATAN KADAR MINYAK KACANG GUDE DENGAN PROSES FERMENTASI OLEH KAPANG *Aspergillus Niger*** adalah milik saya/kami dan tidak meniru atau menggunakan Invenisi orang lain (sebelum invenisi tersebut dipindahkan ke pihak lain, jika pemohon bukan inventor).

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Madiun, 9 Agustus 2017

Inventor



  
drh. Cicilia Novi Primiani, M.Pd

  
Pujiati, S.Si., M.Si

## Deskripsi

### **PROSES PENINGKATAN KADAR MINYAK KACANG GUDE DENGAN PROSES FERMENTASI OLEH KAPANG *Aspergillus niger***

#### **5 Bidang Teknik Invensi**

Invensi ini berhubungan dengan proses peningkatan kadar minyak kacang gude (*Cajanus cajan*) yang diproses fermentasi dengan menggunakan kapang *Aspergillus niger*. Lebih khusus lagi dalam proses tersebut dicirikan oleh penyiapan media, pembuatan starter dan proses fermentasi yang dilakukan menurut suatu proses tertentu menurut invensi ini.

#### **Latar Belakang Invensi**

15 Ketersediaan minyak nabati sangat terbatas, sampai saat ini masih didominasi oleh minyak kelapa sawit dan minyak jagung. Minyak nabati dapat digunakan sebagai bahan pangan maupun obat-obatan. Tumbuhan famili Leguminoceae (kacang-kacangan) mempunyai potensi menghasilkan minyak nabati tetapi belum banyak diproduksi. Salah satu Leguminoceae lokal yang ketersediaannya melimpah dan dapat dikembangkan untuk produksi minyak nabati adalah kacang gude (*Cajanus cajan*). Kacang gude mempunyai kandungan lemak nabati yang cenderung rendah. Rendahnya lemak dapat ditingkatkan melalui proses fermentasi padat (*Solid State Fermentation*). Metode fermentasi padat (*Solid State Fermentation*) adalah metode yang menggunakan substrat padat. Menurut Nigam (dalam Martins, Solange, Guillermo, Julio, Cristobal and Jose, 2011: 368) kapang sangat cocok digunakan dalam fermentasi padat karena hanya membutuhkan sedikit air dalam pertumbuhannya. Kapang *Aspergillus niger* merupakan kapang yang berpotensi dalam fermentasi makanan karena tidak menghasilkan mikotoksin (Waluyo, 2011: 316).

Menurut Xiaojuan, Shuyi, Yuangen, Jie, Ying Ying, dalam jurnal Chemical Science Engineering Vol. 5, 2011 bahwa peningkatan kadar minyak kedelai dengan metode *Solid State Fermentation* (SSF) menggunakan kapang *Aspergillus niger* diperoleh hasil kadar minyak maksimum 47,4% pada waktu inkubasi 96 jam. Menurut Martins, Silvia, Solange Mussato, Aulia, Saens, Aguilar dan Teixeria, dalam jurnal Biotechnology Advances Vol. 29 2001 bahwa kapang *Aspergillus niger* dalam proses fermentasi padat dapat menghasilkan beberapa enzim termostabil seperti amilase, selulase, protease dan lipase.

Invensi sebelumnya berkaitan dengan kapang *Aspergillus niger* yang dikemukakan oleh Laurent Chevalet et al., (WO 1996038549 A1) adalah proses produksi aminopeptidase *Aspergillus niger* dan Pradosh Prasad Chakrabarti et al., (WO 2003102118 A2) adalah proses pra perlakuan pada sayuran (antara lain kedelai) menggunakan *Aspergillus* untuk memperoleh kandungan minyak.

Invensi ini menggunakan kapang *Aspergillus niger* dalam fermentasi untuk memperoleh kandungan minyak biji kacang gude (*Cajanus cajan*). Kacang gude merupakan tumbuhan famili Leguminoceae. Penelitian Graham E. Kelly et al., (US 7033621 B1) Leguminoceae mengandung senyawa isoflavan. Isoflavan kacang gude merupakan senyawa dengan struktur kimia mirip hormon estrogen yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen, sehingga mampu menimbulkan sifat estrogenik.

#### **Uraian singkat invensi**

Secara singkat, invensi ini adalah berupa proses peningkatan kadar minyak Kacang Gude (*Cajanus cajan*) melalui proses fermentasi menggunakan kapang *Aspergillus niger* yang dicirikan oleh perlakuan dalam tahapan sebagai berikut:

**Pertama:** pembuatan Media untuk Fermentasi Padat Kacang Gude dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 5 a. Kacang gude kering disortir terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang tercampur dan dihaluskan hingga mendapatkan ukuran serbuk halus dan seragam;
- b. serbuk halus kacang gude dicampur dengan air dengan perbandingan 50 gr serbuk dan 75 ml air;
- 10 c. Campuran serbuk halus kacang gude dengan air disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit;
- 15 d. Media yang telah disterilisi kemudian didinginkan untuk selanjutnya diinokulasikan kultur kapang *Aspergillus niger* dengan konsentrasi minimal 0,4 ml/g hingga 0,6 ml/g dan waktu inkubasi antara 72 jam hingga 120 jam;

**Kedua,** pembuatan starter kultur *Aspergillus niger* dengan tahapan sebagai berikut:

- 20 a. Menumbuhkan *Aspergillus niger* pada media PDA miring 5 ml kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari;
- 25 b. Mensuspensikan secara aseptis spora kapang *Aspergillus niger* pada tabung miring dengan 500 air fisiologis secara bertahap, dalam 500 air fisiologis mengandung 10 g glukosa, 1,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,75 g  $\text{MgSO}_4$ ;
- 30 c. Menghomogenisasi starter kultur pada shaker incubator selama 20 menit dengan kecepatan 180 rpm kemudian diinkubasi selama 24 jam;
- d. Menghitung jumlah spora pada kultur menggunakan haemocytometer sejumlah  $3,5 \times 10^4$  spora;

e. Mengambil starter kultur sebanyak minimal 0,4 ml/g (20 ml/50 gr) dan maksimal 0,6 ml/g (30 ml/50 gr);

**Ketiga,** proses fermentasi padat (*Solid State Fermentation*) kacang gude dengan tahapan:

5 a. Substrat steril diinokulasikan starter kultur *Aspergillus niger* dengan konsentrasi minimal 0,4 ml/g (20 ml/50g) dan maksimal 0,6 ml/g (30 ml/50 g);

10 b. Homogenisasi Substrat steril pada huruf a dengan menggunakan rotator orbital dengan kecepatan 180 rpm selama 30 menit kemudian diinkubasi antara 96 jam hingga 120 Jam;

15 **Keempat,** Pemeriksaan keberhasilan proses fermentasi padat sehingga meningkatkan kadar minyak Kacang Gude dengan menggunakan metode *soxhlet* dengan pelarut *n-hexane*.

#### **Uraian lengkap invensi**

20 Sebagaimana telah dikemukakan pada latar belakang invensi bahwa kandungan minyak biji kacang gude sebagai minyak nabati dapat ditingkatkan melalui proses fermentasi menggunakan kapang *Aspergillus niger*.

25 Pada umumnya minyak nabati merupakan sumber asam lemak tidak jenuh. Beberapa di antaranya merupakan asam lemak esensial, antara lain asam oleat, linoleat, linolenat dan arakhidonat (Ketaren, 1986). Kekurangan bahan-bahan di atas dapat menyebabkan terjadinya defisiensi gizi terutama pada balita. Kekurangan gizi ini dapat berdampak pada  
30 proses pertumbuhan dan perkembangan anak. Vitamin E yang terkandung dalam minyak nabati merupakan antioksidan yang melindungi ketahanan tubuh dari penyakit yang disebabkan

oleh radikal bebas, memperlambat proses penuaan kulit, menghaluskan kulit, mencegah pendarahan pada wanita hamil (fertilitas) dan mencegah keguguran, mengurangi pendarahan pada saat haid, menyembuhkan penyakit lemah syahwat, mencegah pengendapan kolesterol dalam darah dan mencegah penyakit jantung coroner (Thoha, 2013)

Deskripsi tentang pentingnya minyak nabati dalam bidang kesehatan merupakan alasan untuk meningkatkan produksi minyak nabati, khususnya terhadap minyak nabati dari kacang-kacangan yang tinggi kandungan asam lemak tidak jenuhnya. Ada beberapa cara ekstraksi untuk mendapatkan minyak nabati dari kacang-kacangan, antara lain dengan cara pengepresan mekanik, ekstraksi dengan pelarut dan cara rendering. Akan tetapi secara komersial proses produksinya menjadi tidak ekonomis karena efisiensi pembuatannya yang rendah, sehingga harga minyak menjadi mahal (Ketaren, 1986). Permasalahan tersebut di atas perlu di pecahkan dengan meningkatkan penelitian-penelitian untuk memperoleh efisiensi dan kadar minyak yang tinggi salah satunya melalui proses fermentasi. Metode fermentasi padat (Solid State Fermentation) untuk meningkatkan kadar minyak pada kacang gude dilakukan menjadi beberapa tahap antara lain:

1. Tahap persiapan, Kacang gude kering di haluskan dengan menggunakan mesin penggiling kacang-kacangan.
2. Tahap pembuatan inokulum dilakukan dengan memasukkan 2 ose biakan *Aspergillus niger* ke dalam 500 ml air fisiologis yang mengandung 10 g glukosa, 1,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,75 g  $\text{MgSO}_4$  secara aseptis kemudian dishaker menggunakan rotator orbital dengan kecepatan 180 rpm selama 20 menit. Inokulum diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Biakan yang tumbuh dalam waktu semalam kemudiaan diukur jumlah sporanya menggunakan Haemocytometer untuk selanjutnya digunakan sebagai kultur untuk fermentasi kacang gude (Xiaojuan et

al, 2011: 122-125). 2. Tahap fermentasi dilakukan dengan memasukkan 50 g kacang gude yang sudah dihaluskan ke dalam botol infus berukuran 500 ml, menambahkan 75 ml aquades kemudian dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 20 menit. Setelah dingin, media steril diinokulasi dengan 10 ml, 20 ml, 30 ml inokulum secara aseptis dan kemudian dihomogenkan menggunakan rotator orbital dengan kecepatan 180 rpm selama 30 menit. Media fermentasi diinkubasi sesuai dengan rancangan penelitian yaitu 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam (Xiaojuan *et al*, 2011: 123). 3. Tahap analisis kadar dilakukan dengan metode Soxhlet. Sampel di preparasi secara aseptis tiap 24 jam sekali.

Nilai rata-rata kadar minyak fermentasi padat kacang gude oleh *Aspergillus niger* dengan konsentrasi yaitu 0 ml/g, 0,2 ml/g; 0,4 ml/g; dan 0,6 ml/g dan waktu inkubasi masing- masing selama 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam menunjukkan peningkatan kadar minyak sesuai dengan meningkatnya jumlah konsentrasi. Penambahan waktu fermentasi padat kacang gude oleh *Aspergillus niger* dengan konsentrasi yaitu 0 ml/g, 0,2 ml/g; 0,4 ml/g; dan 0,6 ml/g dan waktu inkubasi 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam juga menyebabkan peningkatan kadar minyak kacang, kadar minyak mencapai titik klimaks pada hari ke 4 (96 jam) kemudian mengalami penurunan pada hari ke 5 (120 jam). Nilai rata-rata kadar minyak kacang gude pada konsentrasi 0,2 ml/gr selama yang difermentasi selama 48 jam sebesar 8,94 ± 0,38% dan nilai rata kadar minyak kacang gude pada konsentrasi 0,6 ml/gr yang difermentasi selama 96 jam sebesar 29,34 ± 0,04%. Peningkatan kadar minyak kacang gude dari hasil fermentasi padat dikarenakan kapang *Aspergillus niger* merupakan kapang potensial yang dapat menghasilkan beberapa enzim termostabil seperti amilase,

selulase, protease dan lipase (Martins et al., 2001). Enzim lipase merupakan hidrolase serin yang dapat mengkatalisis secara alami hidrolisis obligasi ester dari gliserida tri-, di- dan mono- menjadi asam lemak dan gliserol (Sanchez, et al., 2015). Enzim yang dihasilkan kapang tersebut berperan dalam mengkatalis pembentukan asam lemak tak jenuh dan lipid sehingga menyebabkan kadar minyak dalam substrat meningkat. Lipase mikrobial telah digunakan sebagai katalis dalam menghasilkan produk-produk berbasis oleokimia antara lain lemak atau minyak termodifikasi seperti trigliserida rendah kalori, minyak kaya EPA dan DHA (Dali et al, 2011). Semakin besar volume inokulum yang ditambahkan akan menghasilkan enzim dan lipid yang lebih banyak (Sukma, Zackiyah dan Gun Gun, 2010:68). Menurut penelitian Falony et al (2006) bahwa *Aspergillus niger* adalah produsen terbaik dalam memproduksi lipase ekstraseluler melalui metode fermentasi padat. Enzim lipase dapat diproduksi melalui metode fermentasi terendam (SmF) dan fermentasi padat (SSF), tetapi kapang berfilamen lebih optimal dalam metode SSF (Sanchez et al, 2015:1. Raw material (Kacang gude kering) yang hanya memiliki kadar minyak 1,6% mengalami peningkatan yang signifikan setelah di treatment dan difermentasikan menggunakan kapang *Aspergillus niger* dengan kadar minyaknya menjadi  $29,34 \pm 0,04$  %.

Dari analisis data (Uji LSD) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) kadar minyak kacang gude terfermentasi pada masing-masing perlakuan. Berdasarkan uji LSD interaksi antara konsentrasi inokulum 0,6 ml/g ( $P_3$ ) dan lama inkubasi 96 jam ( $K_4$ ) berbeda nyata dengan interaksi antarakonsentrasi inokulum 0,4 ml/g ( $P_2$ ) dan lama inkubasi 0 jam ( $K_0$ ) dengan nilai deferensiasi sebesar 27.595\*.

Berdasarkan uji LSD menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi inokulum 0,6 ml/g ( $P_3$ ) dan lama inkubasi 96 jam ( $K_4$ ) memberikan pengaruh tertinggi, sedangkan interaksi antarakonsentrasi inokulum 0,4 ml/g ( $P_2$ ) dan lama inkubasi 5 0 jam ( $K_0$ ) memberikan pengaruh terendah terhadap kadar minyak.

10

15

20

25

30

**Klaim**

1. Proses peningkatan kadar minyak Kacang Gude (*Cajanus cajan*) melalui proses fermentasi menggunakan kapang *Aspergillus niger* yang dicirikan oleh perlakuan dalam tahapan sebagai berikut:

**Pertama:** pembuatan Media untuk Fermentasi Padat Kacang Gude dengan langkah-langkah sebagai berikut:

a. Kacang gude kering disortir terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang tercampur dan dihaluskan hingga mendapatkan ukuran serbuk halus dan seragam;

b. serbuk halus kacang gude dicampur dengan air dengan perbandingan 50 gr serbuk dan 75 ml air;

c. Campuran serbuk halus kacang gude dengan air disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit;

d. Media yang telah disterilisi kemudian didinginkan untuk selanjutnya diinokulasikan kultur kapang *Aspergillus niger* dengan konsentrasi minimal 0,4 ml/g hingga 0,6 ml/g dan waktu inkubasi antara 72 jam hingga 120 jam;

**Kedua,** pembuatan starter kultur *Aspergillus niger* dengan tahapan sebagai berikut:

a. Menumbuhkan *Aspergillus niger* pada media PDA miring 5 ml kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari;

b. Mensuspensikan secara aseptis spora kapang *Aspergillus niger* pada tabung miring dengan 500 air fisiologis secara bertahap, dalam 500 air fisiologis mengandung 10 g glukosa, 1,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,75 g  $\text{MgSO}_4$ ;

c. Menghomogenisasi starter kultur pada shaker incubator selama 20 menit dengan kecepatan 180 rpm kemudian diinkubasi selama 24 jam;

d. Menghitung jumlah spora pada kultur menggunakan haemocytometer sejumlah  $3,5 \times 10^4$  spora;

- e. Mengambil starter kultur sebanyak minimal 0,4 ml/g (20 ml/50 gr) dan maksimal 0,6 ml/g (30 ml/50 gr);

**Ketiga,** proses fermentasi padat (*Solid State Fermentation*) kacang gude dengan tahapan:

- 5 a. Substrat steril diinokulasikan starter kultur *Aspergillus niger* dengan konsentrasi minimal 0,4 ml/g (20 ml/50g) dan maksimal 0,6 ml/g (30 ml/50 g);
- b. Homogenisasi Substrat steril pada huruf a dengan menggunakan rotator orbital dengan kecepatan 180 rpm  
10 selama 30 menit kemudian diinkubasi antara 96 jam hingga 120 Jam;

**Keempat,** Pemeriksaan keberhasilan proses fermentasi padat sehingga meningkatkan kadar minyak Kacang Gude dengan menggunakan metode *soxhlet* dengan pelarut n-  
15 hexane.

20

25

|

**Klaim**

1. Proses peningkatan kadar minyak Kacang Gude (*Cajanus cajan*) melalui proses fermentasi menggunakan kapang *Aspergillus niger* yang dicirikan oleh perlakuan dalam tahapan sebagai berikut:

**Pertama:** pembuatan Media untuk Fermentasi Padat Kacang Gude dengan langkah-langkah sebagai berikut:

a. Kacang gude kering disortir terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang tercampur dan dihaluskan hingga mendapatkan ukuran serbuk halus dan seragam;

b. serbuk halus kacang gude dicampur dengan air dengan perbandingan 50 gr serbuk dan 75 ml air;

c. Campuran serbuk halus kacang gude dengan air disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit;

d. Media yang telah disterilisi kemudian didinginkan untuk selanjutnya diinokulasikan kultur kapang *Aspergillus niger* dengan konsentrasi minimal 0,4 ml/g hingga 0,6 ml/g dan waktu inkubasi antara 72 jam hingga 120 jam;

**Kedua,** pembuatan starter kultur *Aspergillus niger* dengan tahapan sebagai berikut:

a. Menumbuhkan *Aspergillus niger* pada media PDA miring 5 ml kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari;

b. Mensuspensikan secara aseptis spora kapang *Aspergillus niger* pada tabung miring dengan 500 air fisiologis secara bertahap, dalam 500 air fisiologis mengandung 10 g glukosa, 1,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,75 g  $\text{MgSO}_4$ ;

c. Menghomogenisasi starter kultur pada shaker incubator selama 20 menit dengan kecepatan 180 rpm kemudian diinkubasi selama 24 jam;

d. Menghitung jumlah spora pada kultur menggunakan haemocytometer sejumlah  $3,5 \times 10^4$  spora;

- e. Mengambil starter kultur sebanyak minimal 0,4 ml/g (20 ml/50 gr) dan maksimal 0,6 ml/g (30 ml/50 gr);

**Ketiga,** proses fermentasi padat (*Solid State Fermentation*) kacang gude dengan tahapan:

- 5 a. Substrat steril diinokulasikan starter kultur *Aspergillus niger* dengan konsentrasi minimal 0,4 ml/g (20 ml/50g) dan maksimal 0,6 ml/g (30 ml/50 g);
- b. Homogenisasi Substrat steril pada huruf a dengan menggunakan rotator orbital dengan kecepatan 180 rpm  
10 selama 30 menit kemudian diinkubasi antara 96 jam hingga 120 Jam;

**Keempat,** Pemeriksaan keberhasilan proses fermentasi padat sehingga meningkatkan kadar minyak Kacang Gude dengan menggunakan metode *soxhlet* dengan pelarut n-  
15 hexane.

20

25

|