



PRODUKSI PROTEIN SEL TUNGGAL DARI KULTUR *Rhizopus oryzae* DENGAN MEDIUM LIMBAH CAIR TAHU

SINGLE-CELL PROTEIN PRODUCTION THROUGH *Rhizopus oryzae* CULTURE WITH THE MEDIUM OF TOFU WASTEWATER

Leny Maryana^{1*}, Syariful Anam¹, Arsa Wahyu Nugrahani¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

Received 20 Agustus 2016, Accepted 28 September 2016

ABSTRAK

Limbah cair tahu merupakan limbah hasil proses produksi pengolahan tahu yang dapat menurunkan kualitas lingkungan apabila tidak ditangani dengan tepat. Dampak lain yang dapat ditimbulkan adalah potensi terserangnya penyakit seperti diare, penyakit kulit, dan penyakit lainnya bagi masyarakat yang memanfaatkan air sungai yang telah tercemar limbah cair tahu ini. Akan tetapi, adanya kandungan karbohidrat dan protein yang masih tinggi pada limbah ini memungkinkan untuk dimanfaatkan lebih lanjut sebagai substrat pertumbuhan mikroba dalam menghasilkan Protein Sel Tunggal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui waktu inkubasi optimum dan kadar protein tertinggi *Rhizopus oryzae* pada medium limbah cair tahu berdasarkan perhitungan persen kadar protein dan analisis berat kering sel. Serta mengetahui pH optimum pertumbuhannya dengan variasi pH pertumbuhannya 4, 5, dan 6. Perhitungan dilakukan sesuai dengan waktu fermentasi yakni 24, 48, dan 72 jam. Kadar protein total dihitung dengan menggunakan metode Kjeldahl. Hasil penelitian menunjukkan kadar protein tertinggi terdapat pada masa inkubasi ke-48 jam dengan persen rata-rata protein yakni 0,47%, 0,47%, 0,46% dan massa sel dengan rata-rata nilai 0,77%, 0,84% dan 0,91%. Serta pH optimum pertumbuhan *Rhizopus oryzae* pada medium limbah cair tahu adalah pH 5. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa limbah cair tahu potensial digunakan sebagai substrat pertumbuhan *Rhizopus oryzae*.

Kata kunci : Limbah cair tahu, Protein sel tunggal, *Rhizopus oryzae*.

ABSTRACT

Tofu wastewater is the origination of tofu's production process that can degrade the quality of the environment if not handled properly. Another impact of this waste is the potential attack that could evoke the diseases such as diarrhea, skin diseases, and other illnesses for people who use the stream flow that has been polluted by this wastewater. However, the high-carbohydrate and protein of this waste may allow it to be used more as a microbial growth substrate to produce a Single-cell Protein. The purpose of this study is to determine the optimum incubation time and the highest protein content of *Rhizopus oryzae* in the medium of tofu wastewater based on the calculation of protein content percentage and the analysis of cell dry mass. And to know the optimum pH growth with the variation of pH growth which is about 4, 5, and 6. The calculation is performed in accordance with the fermentation time at 24, 48, and 72 hours. Total protein content calculated by the *Kjeldahl* method. The results showed the highest protein content obtained in the incubation period to 48 hours with an average percent of protein about 0.47%, 0.47%, 0.46% and a mass of cell with an average value of 0.77%, 0, 84% and 0.91%. The optimum pH of *Rhizopus oryzae* growth in the medium of tofu wastewater is about 5 pH. It can be concluded that the wastewater of tofu potentially used as a growth substrate of *Rhizopus oryzae*.

Keywords: Wastewater of tofu, Single-cell protein, *Rhizopus oryzae*.

*Corresponding Author : Leny Maryana, lenymaryana190@gmail.com (ph:+62-823-4647-1993)

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara penghasil tahu dan tempe yang menjadi makanan khas Indonesia kaya akan kandungan proteinnya karena terbuat dari bahan dasar biji kedelai. Sebagian besar produk tahu dihasilkan oleh industri skala kecil yang terdapat di seluruh wilayah Indonesia. Namun, di sisi lain industri tahu ini juga menghasilkan limbah cair dan padat yang berpotensi mencemari lingkungan.

Limbah cair industri pangan terutama dari industri tahu mengandung bahan organik yang tinggi, apabila dibuang ke lingkungan tanpa diolah terlebih dahulu akan menimbulkan dampak negatif berupa penurunan kualitas lingkungan. Limbah cair tahu dan ampas tahu juga mengandung protein, lemak, vitamin, dan mineral (Ca, Mg, Fe) sehingga berpotensi sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme (Kasmidjo, 1991; Jenie dan Rahayu, 1993; Kuswardani dan Widjajaseputra, 1998).

Menurut Manfaati (2010) bahan-bahan yang terdapat dalam limbah cair tahu antara lain protein (40-60%), karbohidrat (25-50%) dan lemak (10%). Limbah cair tahu dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai substrat pertumbuhan mikroba seperti dalam pembuatan produk Protein Sel Tunggal (PST).

Protein sel tunggal merupakan produk biomassa berkadar protein tinggi yang berasal dari mikroba. Mikroba penghasil protein sel tunggal umumnya tumbuh pada limbah yang memiliki unsur karbon dan nitrogen yang biasanya terdapat dalam limbah hasil industri. Komponen utama protein sel tunggal adalah asam amino dan mineral. Protein sel tunggal dapat digunakan sebagai pengganti protein dari sumber konvensional seperti hasil pertanian, perikanan, dan peternakan. Selain itu, protein sel tunggal dapat menghasilkan makanan yang sangat bergizi yang disebut sebagai *mycoprotein* (Nigam, 1998; Batubara, 2009).

Pembuatan protein sel tunggal menggunakan limbah cair tahu salah satunya dimungkinkan bisa menggunakan kultur dari *Rhizopus oryzae* yang termasuk dalam golongan kapang. Diketahui *Rhizopus oryzae* dapat mengurai lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino. Selain itu jamur ini juga mampu menghasilkan protease. Maka dari itu peneliti mengharapkan kapang tersebut dapat memberikan keuntungan terhadap

lingkungan dengan hasil optimal dalam memproduksi protein sel tunggal.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Akuades, gula pasir (sukrosa), biakan murni jamur *Rhizopus oryzae*, 0,1 % $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, selenium, asam sulfat pekat, NaOH 5%, indikator metil merah, asam klorida 0,1001 N, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA).

Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian ini berlangsung selama kurang lebih 2 bulan, yakni dari bulan Agustus sampai bulan September 2015 di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako.

Cara kerja

Pembuatan Medium Dari Limbah Cair Tahu

Satu liter sampel limbah cair tahu disaring, dan dimasukkan ke dalam beaker kemudian dipasteurisasi dengan cara limbah dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 menit, didinginkan dalam lemari es selama 30 menit, dan dibiarkan pada suhu kamar 23°C selama 24 jam. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali (Somaye dkk, 2008). Limbah cair tahu yang telah dipasteurisasi kemudian ditambahkan $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,1% (Kurbanoglu, 2001), dan gula pasir 2%, lalu diatur pH dengan penambahan NaOH hingga mencapai pH 4, 5, dan 6 lalu diautoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Somaye dkk, 2008).

Proses Fermentasi Medium Limbah Cair Tahu

Pada media limbah cair tahu steril sebanyak 150 ml diinokulasikan 1 ose kultur *Rhizopus oryzae* dan diinkubasi pada suhu kamar di atas shaker berkecepatan 160 rpm selama 24; 48; dan 72 jam. Setiap 24 jam dianalisis jumlah koloni yang tumbuh menggunakan metode surface plate pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dihitung berat kering sel dan ditetapkan kadar proteinnya (Somaye dkk, 2008).

Analisis Berat Kering Sel

Cawan porselein dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Cawan porselein didinginkan dalam desikator selama 30 menit, kemudian

ditimbang untuk mengetahui beratnya. Ditimbang 10 gram medium limbah yang telah terfermentasi didalam cawan porselein yang telah diketahui berat awalnya. Medium limbah yang telah terfermentasi dimasukkan kedalam oven suhu 105°C sampai beratnya konstan. Berat kering sel dihitung dari selisih berat massa sel kering (yang telah dioven) – berat cawan porselein.

Analisis Kadar Protein

Kadar protein sel tunggal dianalisis menggunakan metode Kjeldahl dengan cara sebagai berikut : sampel medium limbah yang telah terfermentasi ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 ml, selanjutnya ditambahkan 2 g selenium dan 10 ml asam sulfat pekat. Campuran dimasukkan ke dalam Destruksi turbosog selama 2 jam lalu dibiarkan dingin selama 30 menit, kemudian dimasukkan satu persatu ke dalam Destilasi vapodest untuk dilakukan proses destilasi dan titrasi secara otomatis. Hasil dari proses ini akan diketahui volume titasi, dan volume blanko. Kadar protein akan dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ N} \times \text{Faktor konversi}$$

Keterangan :

% N : Persen Nitrogen

Faktor konversi : Untuk campuran senyawa-senyawa protein atau yang belum diketahui komposisi unsur penyusunnya, maka digunakan faktor perkalian 6,25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Persen kadar protein.

pH	Waktu inkubasi (jam)	Berat sampel (gram)	Rata-rata volume (ml)		% N	% Protein
			Titrasi (ml)	Blanko (ml)		
4	24	1,1083	0,320	0,02	0,04	0,24
	48	1,1296	0,620	0,02	0,08	0,47
	72	1,0730	0,320	0,02	0,04	0,25
5	24	1,1674	0,320	0,02	0,04	0,22
	48	1,1296	0,620	0,02	0,07	0,47
	72	1,0832	0,320	0,02	0,04	0,24
6	24	1,1313	0,320	0,02	0,04	0,23
	48	1,1438	0,620	0,02	0,07	0,46
	72	1,1016	0,320	0,02	0,04	0,24

Tabel 2. Persen Berat Kering Sel

Waktu inkubasi (jam)	pH	Rata-rata bobot sampel (gram)	Rata-rata % berat kering (gram)
24	4	10,0538	0,77
	5	10,0615	0,83
	6	10,0376	0,87
48	4	10,1344	0,77
	5	10,2465	0,84
	6	10,2785	0,91
72	4	10,1027	0,77
	5	10,2427	0,84
	6	10,3439	0,86

Pembuatan medium limbah cair tahu dilakukan selama 4 hari karena masih banyak campuran serbuk tahu yang mengendap dan dapat mempengaruhi pertumbuhan kapang *Rhizopus oryzae*, selain itu sterilisasi medium limbah cair tahu sangat penting dilakukan untuk menghindari kontaminasi akibat keberadaan mikroorganisme lain yang dapat tumbuh di dalamnya.

Jamur *Rhizopus oryzae* ini merupakan salah satu jenis jamur non patogen yang dapat mengurai lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino, selain itu jamur ini juga mampu menghasilkan protease. Dalam perlakuannya, jamur ini ditumbuhkan pada medium limbah cair tahu yang telah diatur pHnya yakni pH 4, 5, dan 6 dengan waktu inkubasi selama 24, 48, dan 72 jam pada shaker rotation. Pengadukan di atas alat shaker dilakukan karena jamur ini bersifat aerob, oleh karena itu harus cukup mendapat oksigen agar dapat tumbuh optimal. Selain itu dalam keadaan aerob jamur ini dapat mengubah karbon, nitrogen, dan mineral sebagai nutrisi sehingga dapat menghasilkan protein sel tunggal (Marx, 1991) pengadukan juga berfungsi untuk menghomogenkan sel jamur di dalam medium. Selanjutnya medium dibagi dalam 27 erlemeyer pada tiap pH yakni, pada pH 4 menjadi 9 erlemeyer lalu tiap 3 erlemeyer mewakili untuk waktu inkubasi 24, 48, dan 72 jam, hal yang sama dilakukan untuk pH 5 dan pH 6, kemudian perlakuan lainnya dengan menumbuhkan limbah cair tahu yang telah terfermentasi ke dalam medium Potato Dekstro Agar (PDA) untuk mengamati jumlah koloni yang tumbuh pada medium tersebut.

Pada waktu inkubasi ke-24 jam belum terjadi perubahan yang signifikan pada tiap erlenmeyer di tiap pH jika diamati secara organoleptik, hal ini dikarenakan pada fase-fase kinetika pertumbuhan jamur tersebut terdapat 4 fase, dimana fase pertama adalah fase Lag yang merupakan fase awal sejak inokulasi sel pada medium dan termaksud suatu periode adaptasi sehingga belum mengadakan perbanyakan sel, bahkan sebagian selnya mati dan hanya sel yang dapat beradaptasi saja yang dapat bertahan hidup. Perubahan mulai nampak pada waktu inkubasi ke-48 dan 72 jam. Pada waktu inkubasi ke-48 jam mulai menunjukkan adanya pertumbuhan jamur dengan munculnya koloni berwarna putih, spora berbentuk bulat seperti bola-bola kapas kecil, dan ini terdapat pada erlenmeyer di tiap pH. Hal ini mulai menunjukkan fase kedua pertumbuhan yang disebut fase Eksponensial dimana pada fase ini pembelahan mikroba sangat cepat dan konstan sehingga sel mikroba mengalami reaksi metabolisme yang maksimum. Sedangkan waktu inkubasi ke-72 jam koloni berwarna putih berangsur-angsur menjadi putih keabuan dan ukurannya menjadi lebih besar. Hal ini menunjukkan fase ketiga pertumbuhan yakni fase Stasioner dimana fase ini kecepatan pertumbuhan adalah nol. Jumlah sel baru sebagai hasil reproduksi seimbang dengan jumlah sel yang mati, sehingga saat ketahanan hidup menurun lisis sel dapat terjadi dan massa sel akan menurun. Fase keempat pada kinetika pertumbuhan mikroba adalah fase kematian dimana fase ini jumlah sel yang hidup makin lama makin menurun sedangkan jumlah kematian semakin banyak. Sel mati diakibatkan oleh penumpukan racun karena makin banyaknya akumulasi hasil metabolisme yang toksik terhadap sel serta habisnya nutrisi di dalam medium.

Metode yang digunakan dalam menentukan persen kadar protein jamur *Rhizopus oryzae* pada limbah cair tahu yaitu metode Kjeldahl, dimana metode ini umum digunakan untuk menentukan jumlah nitrogen yang dikandung oleh suatu bahan terutama untuk penelitian yang lebih mendasar seperti untuk mengetahui nilai gizi protein tertentu, susunan asam amino, aktifitas enzim dan lain-lain (Sudarmadji, 1989). Analisis kadar protein dengan metode ini dibagi menjadi tiga tahap yakni destruksi, destilasi, dan titrasi. Pada tahap awal destruksi bertujuan untuk

melepaskan nitrogen dari protein sehingga pada akhir destruksi akan diperoleh $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan cara sampel dipanaskan dalam larutan asam sulfat pekat sehingga unsur karbon dan hidrogen teroksidasi menjadi H_2O , CO_2 , dan CO , dan unsur nitrogen berubah menjadi amonium sulfat (Legowo, 2005). Alat destruksi bekerja berdasarkan prinsip lemari asam karena selama proses destruksi akan dihasilkan gas SO_2 yang berbau menyengat dan dapat membahayakan jika dihirup dalam jumlah relatif banyak. Sedangkan pada tahap destilasi bertujuan untuk memecah amonium sulfat atau $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ menjadi amonia, dengan prinsip memisahkan cairan berdasarkan perbedaan titik didih (Legowo, 2005). Perlakuan akhir dalam menentukan persen kadar protein dalam penelitian ini adalah proses titrasi dengan menggunakan HCl sebagai titran dan metil merah sebagai indikator dalam menentukan titik akhir titrasi. Indikator metil merah ini dapat membedakan antara larutan asam dan larutan basa, larutan asam yang ditetesi metil merah akan tetap berwarna merah sedangkan larutan basa akan berwarna kuning. Setelah tiap tahap dalam metode Kjeldahl telah dilakukan maka prosedur selanjutnya yakni menghitung jumlah persen kadar protein dengan menggunakan faktor konversi. Faktor konversi pada penetapan kadar protein berbeda-beda tergantung dari jenis sampel yang digunakan karena kandungan nitrogen tiap bahan berbeda, faktor konversi biasanya 6,25 dengan kadar nitrogen dalam protein sebesar 16%. Semakin besar kandungan atau kadar nitrogen dalam bahan, maka akan semakin kecil faktor konversinya.

Selain dilakukannya metode penentuan kadar protein pada penelitian ini juga dilakukan uji persen berat kering sel yang bertujuan untuk melihat waktu keberapakah yang menghasilkan massa sel tertinggi, selain itu perhitungan berat kering sel biasanya digunakan juga untuk mengukur efisiensi masa inkubasi dan sebagai parameter konsumsi substrat dan produksi senyawa yang dikehendaki. Perlakuannya dengan membersihkan terlebih dahulu cawan porselein yang akan digunakan dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, hal ini bertujuan untuk membebaskan senyawa-senyawa yang terkandung dalam cawan agar tidak mempengaruhi hasil penimbangan. Pada perlakuan menimbang

sampel dan diletakkan pada oven untuk menguapkan kadar airnya bertujuan agar didapatkan bobot sampel yang murni. Maka dihasilkan massa sel tertinggi terdapat pada waktu inkubasi ke-48 jam dengan rata-rata nilai 0,77% pada pH 4, 0,84% pada pH 5, dan 0,91% pada pH 6. Sedangkan untuk jumlah koloni yang tumbuh dalam medium PDA yakni secara berurutan pH 4 16 koloni, pH 5 67 koloni, dan pH 6 49 koloni.

Berdasarkan hasil analisis penelitian yang telah dilakukan terhadap kemampuan tumbuh jamur *Rhizopus oryzae* pada medium limbah cair tahu, maka kemungkinan besar limbah cair ini dapat dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikroba baik bakteri, yeast, maupun kapang karena kandungan karbon, nitrogen, dan mineral yang masih tinggi (Manfaati, 2010). Selain itu, mikroba penghasil protein sel tunggal umumnya tumbuh pada limbah yang mengandung karbon, dan nitrogen yang tinggi (Nigam, 1998; Batubara, 2009).

Dari hasil perhitungan persen kadar protein yang tertinggi ditemukan pada waktu inkubasi ke-48 jam dengan rata-rata persen kadar protein yaitu sebagai berikut : 0,47% pada pH 4, 0,47% pada pH 5, dan 0,46% pada pH 6. Sedangkan pada waktu inkubasi ke-72 jam persen kadar protein berangsur menurun, hal ini disebabkan pada waktu inkubasi 48 jam terjadi fase dimana mikroorganisme tumbuh dan membelah pada kecepatan maksimum. Penambahan jumlah sel baru terjadi dengan laju konstan dan massa yang bertambah secara eksponensial, hal ini pula yang menjadikan persen protein pada jam ke-48 menjadi meningkat, sedangkan pada waktu inkubasi jam ke-72 terjadi fase dimana mikroorganisme yang membelah dan sel yang mati seimbang. Selain itu juga terjadi akumulasi produk buangan yang toksik sehingga persen kadar protein yang terdapat juga ikut berkurang.

Pada hasil uji statistik dengan ANOVA terlihat nilai $p = 0,000$ yang menandakan paling tidak terdapat perbedaan kadar protein yang bermakna pada tiga kelompok data. Pada uji homogeneous subsets terhadap pH optimum pertumbuhan jamur *Rhizopus oryzae* pada waktu inkubasi ke-24, 48, dan 72 ditemukan pada pH 5 dimana terdapat tiga kolom berbeda yang menandakan terjadi perbedaan bermakna di tiap waktu inkubasi tersebut, sementara jika diamati pada tabel pH 4 dan pH 6 waktu inkubasi ke-24 dan 72 jam

berada pada tabel yang sama yang menunjukkan pada pH tersebut tidak terjadi perbedaan bermakna dalam menghasilkan persen kadar protein. Sementara pada Test homogeneity of variance diketahui nilai $p = 0,232, 0,467, \text{ dan } 0,157$, maka nilai $p > 0,05$ sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa tidak ada perbedaan varians antara kelompok data yang dibandingkan atau dengan kata lain varians data adalah sama.

Pertumbuhan jamur *Rhizopus oryzae* ditandai dengan adanya penambahan jumlah sel. Peningkatan sel menyebabkan peningkatan dari seluruh kandungan sel termasuk asam nukleat dan protein yang dinyatakan sebagai massa sel (Somaye, 2008) sehingga berat kering sel berbanding lurus dengan jumlah koloni. Dengan demikian pemanfaatan limbah cair tahu sebagai medium pertumbuhan mikroba untuk produksi protein sel tunggal dapat mengurangi residu polutan di lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Batubara, U.M. (2009). *Pembuatan Pakan Ikan dan Protein Sel Tunggal Bakteri Fotosintetik Anoksigenik dengan Memanfaatkan Limbah Cair Tepung Tapioka yang Diuji Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)*. Skripsi. Departemen Biologi. USU : Medan.
- Jenie, B.S.L., & Rahayu. (1993). *Penanganan Gizi Limbah Industri Pangan*. Penerbit Kanisius : Yogyakarta.
- Kasmidjo. (1991). *Bahan Ajaran Penanganan Limbah Pertanian, Perkebunan, dan Industri Pangan*. PAN Pangan dan Gizi : Yogyakarta.
- Kuswardani, I., & Widjajaseputra. (1998). *Produksi Protein Sel Tunggal *Phanerochaete chrysosporium* Pada Media Limbah Cair Tahu yang Diperkaya : Kajian Optimasi Waktu Panen*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi. 604-613.
- Kurbanoglu, E.B. (2001). Production of Single-cell Protein from Ram Horn Hydrolysate. *Turk. J.Biol.* 25, 371-377.

- Legowo, A. (2005). *Analisis Pangan*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro : Semarang.
- Manfaati, R. (2010). *Kinetika dan Variabel Optimum Fermentasi Asam Laktat dengan Media Campuran Tepung Tapioka dan Limbah Cair Tahu oleh Rhizopus oryzae*. Tesis. Magister Teknik Kimia. UNDIP : Semarang.
- Marx, J.L. (1991). *Revolusi Bioteknologi*. Yayasan Obor Indonesia : Jakarta.
- Nigam, J.N. (1998). Single Cell Protein from Pineapple Cannery Effluent. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 14, 693-696.
- Somaye, F., Marizich., & Lale. (2008). *Single-Cell Protein (SCP) Production from Uf Cheese When by Kluyveromyces Marxianus*. 18th National Congress on Food Technology. Iran. 16-18 oct.