

PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI PROTEIN SEL TUNGGAL
DARI LIMBAH PADAT TAPIOKA
DENGAN MENGGUNAKAN *Rhizopus oryzae*

ARDIANSYAH PRAYITNO
93 03 701



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2000

SKRIPSI

Oleh

**ARDIANSYAH PRAYITNO
93 03 701**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2000**

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI PROTEIN SEL TUNGGAL
DARI LIMBAH PADAT TAPIOKA
DENGAN MENGGUNAKAN *Rhizopus oryzae***

**Skripsi Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh
Gelara Sarjana Pada Jurusan Biologi
Fakultas Matematika Dan
Ilmu Pengetahuan Alam**

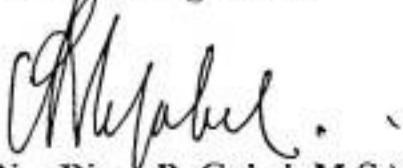
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2000

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI PROTEIN SEL TUNGGAL
DARI LIMBAH PADAT TAPIOKA
DENGAN MENGGUNAKAN *Rhizopus oryzae***

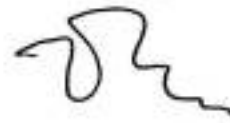
Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama



(~~Dra. Ny. Risco B. Gobet, M.S.~~)

Pembimbing Pertama



(Dra. Zaraswati Dwyana, M.Si.)

Pada Tanggal : _____ 2000

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas anugrah dan berkat-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Demi penyempurnaan skripsi penulis berharap adanya saran dan kritik dari pembaca agar bisa memberikan manfaat yang maksimal bagi pembaca-pembaca lainnya.

Penelitian dan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik hanya karena bimbingan, arahan, petunjuk dan kebijaksanaan dari semua pihak yang telah banyak membantu. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih yang tak terhingga kepada :

- Ibu Dra. Ny. Risco B. Gobel, MS. dan Ibu Dra. Zaraswati Dwyana, MSi. selaku pembimbing yang telah banyak memberikan bantuan.
- Bapak DR. M. Noor Jalaluddin sebagai Dekan Fakultas MIPA.
- Bapak Drs. Alex Palinggi sebagai penasehat akademik.
- Bapak dan Ibu Staf Dosen Biologi yang telah memberikan bantuan, kebijaksanaan dan contoh moral yang sangat berharga untuk ditiru.
- Seluruh anggota keluarga penulis yang tercinta.
- Keluarga Pdt. Sopamena yang telah banyak membantu mengatasi sakitku.
- Yuliana Sambara, S.Si. dan Hasmulyadi selaku teman, sahabat dan saudara yang telah banyak membantu . (Yuli : Persaudaraan kita tak akan putus).



- Kekasihku Nha-nha yang telah banyak menghabiskan waktunya untukku.
- Kakanda Eddyman atas nasehat dan kata-kata bijaknya tentang kehidupan mahasiswa sebagai manusia (Sekarang Bapak Eddyman W. Ferrial, SSi. Msi.) serta bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini.
- Seluruh pihak di mana saja yang telah banyak membantu sampai terselesaikannya skripsi ini. (Citra Computer : Yos Team).
- Teman-temanku : Ka' Anto, Ka' Enab, Amat, Cida, Frengky, Amy, Ka' Adil, Ka' Syam, Ka' Adit, Ka' Ali, Indra, Irfan, Alling, Achsan dan teman-teman lainnya yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT selalu melindungi, memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada Bapak dan Ibu Staf Dosen Biologi juga teman-teman sekalian. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada kita semua. Amin

Makassar, September 2000

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh waktu fermentasi terhadap produksi protein sel tunggal (PST) dengan substrat limbah padat tapioka dengan menggunakan *Rhizopus oryzae*. Penelitian ini bermaksud untuk memproduksi PST dengan substrat limbah padat tapioka dengan menggunakan *Rhizopus oryzae*, dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap kandungan protein dari PST dengan menggunakan *Rhizopus oryzae* dengan substrat limbah padat tapioka. Analisa kualitatif kadar protein dilakukan dengan metode Biuret dan analisa kuantitatifnya dengan metode Lowry. Dari penelitian ini diperoleh hasil masa sel kering 0,5520 gr/150 ml sampai 1,1569 gr/150 ml, efisiensi konsepsi substrat menjadi masa sel kering berkisar antara 1129% sampai 53,59% dan konsentrasi protein berkisar 14,19% sampai 30,13%. Kandungan terbesar didapat pada waktu fermentasi 4 x 24 jam, hal ini dikarenakan kapang *Rhizopus oryzae* mengalami pertumbuhan yang optimal pada waktu tersebut.

Kata kunci : protein sel tunggal, limbah padat tapioka dan *Rhizopus oryzae*.

ABSTRACT

A research about the influence of variation fermentation times on the single cell protein product from solid waste of tapioca as substrate and the amount of *Rhizopus oryzae* had been done. The intention of this research was to obtain the single cell protein from solid waste of tapioca and the amount of *Rhizopus oryzae* and the aim was to know about the effect of variation fermentation times for the content of the protein from single cell protein at used *Rhizopus oryzae*. For qualitative analysis protein it using Biuret method and for quantitative analysis it using Lowry method. From this research shows that mass production dried cell of cell protein is turn between 0,5520 g/150 ml to 1,1569 g/150 ml, efficiency of substrate conversion value become mass dried cell is turn between 11,29 % to 53,59 %. The highest concentration of protein was obtained on time fermentation 4 x 24 hours (the fourth days), this fact caused *Rhizopus oryzae* have a better situation for making his activity optimal.

Key words : Single cell protein, solid waste of tapioca and *Rhizopus oryzae*.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	3
1.2.1 Maksud Penelitian	3
1.2.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1. Industri Pengolahan Tapioka	4
II.2. Aspek Biologis <i>Rhizopus oryzae</i>	7
II.3. Protein Sel Tunggal.....	8
II.4 Pembuatan Protein Sel Tunggal.....	9
II.4.1. Substrat	10
II.4.2. Mikroorganisme.....	10
II.4.3. Variabel Yang Mempengaruhi Produksi PST.....	13
II.4.4. Kualitas dan Keamanan Produk.....	16

BAB III ALAT, BAHAN DAN METODE KERJA

III.1 Alat	19
III.2. Bahan	20
III.3. Metode Kerja	21
III.3.1. Sterilisasi Alat.....	21
III.3.2. Pengambilan dan Penyiapan Sampel.....	22
III.3.3. Penyiapan Substrat.....	22
III.3.4. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Hasil Hidrolisis	22
III.3.5. Pengukuran dan Penetapan Konsentrasi	
Gula Substrat	24
III.3.6. Penyiapan Suplemen Mineral.....	24
III.3.7. Sterilisasi	25
III.3.8. Pembuatan Inokulum Starter	25
III.3.9. Fermentasi.....	25
III.3.10. Pemanenan.....	26
III.3.11. Pengeringan	26
III.3.12. Pengamatan Produk Masa Sel	26
III.3.13. Analisis Kadar Protein PST	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
IV.1. Substrat Hasil Hidrolisis.....	28
IV.2. Produk PST Berupa Massa Sel Kering.....	29
IV.3. Konversi Substrat menjadi PST	30
IV.4. Kadar Protein dalam Produk PST	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1. Kesimpulan	32
V.2. Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
DAFTAR LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Komposisi kimia ubi kayu dan peti dihitung per 100 gram bahan	5
2. Komposisi limbah padat tepung tapioka	6
3. Komposisi limbah air tepung tapioka	7
4. Perbandingan komposisi dari susu, telur ayam dan mikroorganisme (%) ...	17
5. Perbandingan komposisi beberapa asam amino dengan sumber protein lain (gram/100 gram kandungan protein)	17
6. Hasil pengukuran transmitan larutan guia standar (1 gr D-glukosa dalam 1000 ml) dan substrat hasil hirolisis	36
7. Hasil penimbangan massa sel kering produk PST (gr/150 ml fermentasi)...	37
8. Hasil perhitungan efisiensi konversi substrat menjadi massa sel kering (%).	38
9. Hasil pengamatan kadar gula residu dan pH akhir	38
10. Hasil pengukuran transmitan dengan konsentrasi larutan protein standar 0,1 gr albumin dalam 100 ml aquades (b/v)	39
11. Hasil perhitungan kadar protein dan protein sel tunggal (% b/v).....	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema pembuatan protein sel tunggal dari limbah	9
2. Kurva laju pertumbuhan mikroba terhadap suhu	15
3. Skema kerja pengaruh waktu fermentasi terhadap produksi PST dengan substrat limbah padat tepung tapioka dengan menggunakan <i>Rhizopus oryzae</i>	34
4. Kurva hubungan konsentrasi gula standar dengan absorbansi.....	37
5. Kurva hubungan konsentrasi protein standar dengan absorbansi	39
6. Gambar selama penelitian	41
7. Skema kerja pengaruh waktu fermentasi terhadap produksi protein sel tunggal dari substrat limbah padat tapioka dengan menggunakan <i>Rhizopus oryzae</i>	35
8. Perlakuan fermentasi substrat.....	41
9. Pasta sel	42
10. Proses pemisahan supernatan dengan pasta sel.....	42

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Ada beberapa kebutuhan dasar manusia yang paling mendasar yaitu pangan, sandang, papan, pendidikan dan kesehatan, namun yang paling mendesak karena adanya ketidakseimbangan antara pertumbuhan penduduk yang pesat dibanding dengan produksi pangan⁽¹⁾. Masalah ini mengakibatkan berbagai dampak pada status gizi masyarakat yang umum dihadapi di negara yang sedang berkembang, termasuk Indonesia terutama masalah kekurangan protein⁽²⁾.

Pengembangan sumber-sumber protein baru atau protein non konvensional merupakan salah satu alternatif pemecahan masalah pangan di masa yang akan datang. Protein konvensional yang telah dikembangkan meliputi protein konsentrat dari ikan berkualitas rendah (Fish Protein Content), protein hasil ekstraksi berbagai tanaman hijau (leaf protein) dan pemanfaatan protein sel tunggal (PST) dari mikroorganisme⁽³⁾.

PST adalah istilah yang digunakan untuk bahan-bahan protein yang berasal dari organisme bersel satu atau banyak tetapi sederhana, misalnya alga, bakteri, kapang dan khamir. PST selain sebagai sumber protein juga sumber lemak, mineral, vitamin dan karbohidrat yang dapat dibuat dari bahan non pangan atau berbagai jenis limbah⁽⁴⁾.

Limbah menjadi masalah yang timbul karena peningkatan jumlah penduduk. Limbah-limbah tersebut diantaranya adalah limbah industri dan rumah tangga ⁽⁴⁾.

Limbah industri dengan bahan baku hasil pertanian merupakan golongan terbesar yang umumnya banyak mengandung pati dan selulosa seperti kulit buah, ampas tebu, limbah kayu, dan lain-lain. Bahan-bahan tersebut dapat digunakan sebagai sumber karbon dan sumber energi oleh mikroorganisme pada proses fermentasi yang dapat menghasilkan bahan-bahan kimia dan produk makanan seperti PST ⁽⁵⁾.

Salah satu industri yang dikembangkan untuk mendukung ekspor non migas adalah industri tepung tapioka yang menggunakan bahan dasar ubi kayu (*Manihot utilisima*). Dalam proses pengolahan tepung tapioka ini, dapat menimbulkan masalah lingkungan akibat limbah yang dihasilkan sebagai sisa dari hasil pengolahan. Limbah yang dihasilkan ada 2 jenis berdasarkan konsistensinya yaitu limbah padat dan limbah cair. Limbah-limbah ini dapat digunakan sebagai sumber karbon selama proses fermentasi ⁽⁹⁾.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian tentang pengaruh waktu fermentasi terhadap produksi protein sel tunggal dengan substrat limbah padat tapioka dengan menggunakan *Rhizopus oryzae*.

1.2. Maksud dan Tujuan Penelitian

1.2.1. Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk memproduksi Protein Sel Tunggal dengan substrat limbah padat tepung tapioka dengan menggunakan *Rhizopus oryzae*.

1.2.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap kandungan protein dari Protein Sel Tunggal dengan menggunakan kapang *Rhizopus oryzae* dengan substrat limbah padat tepung tapioka.

1.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung pada bulan Agustus-September 2000, bertempat di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA UNHAS.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan limbah padat tapioka.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Industri Pengolahan Tapioka

Bahan baku pembuatan tapioka adalah ubi kayu (*Manihot utilissima* Pohl), dikenal juga sebagai ketela pohon atau singkong, tergolong famili *Euphorbiaceae* (jarak-jarakan). Nama latin ubi kayu yang lain adalah *Manihot esculenta* dan *Manihot palmata*. Ubi kayu tumbuh baik pada ketinggian 0 - 1500 m dari permukaan air laut ⁽⁸⁾.

Produksi singkong yang tinggi dan semakin meningkat perlu mendapat penyaluran dalam pengolahan dan pemasarannya supaya keuntungan yang didapat oleh petani singkong dapat maksimal. Oleh karena itu perkembangan industri tepung tapioka baik berupa industri rumah tangga ataupun industri besar dikembangkan dengan harapan dapat memberikan nilai tambah pada singkong maupun menciptakan pasar bagi produksi singkong ⁽⁹⁾.

Pemanfaatan ubi kayu atau singkong umumnya digunakan sebagai makanan pokok karena didukung oleh kandungan karbohidrat yang tinggi, seperti yang terlihat pada tabel 1 yaitu perbandingan komposisi kimia antara ubi kayu dan pati.

Tabel 1. Komposisi kimia ubi kayu dan pati dihitung per 100 gram bahan.

Komposisi	Umbi	Pati
Kalori (kal)	146	365
Protein (gram)	1,2	0,5
Lemak (gram)	0,3	0,3
Karbohidrat (gram)	34,7	86,9
Kalsium (mgram)	33	0
Phospor (mgram)	40	0
Besi (mgram)	0,7	0
Abu (gram)	1	-
Air (gram)	62,5	12,0

Sumber : Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI (1972) Dalam Herry 1985⁽⁹⁾

Berkembangnya industri-industri tapioka terutama industri besar selain memberikan dampak positif bagi daerah sekitar juga memberikan dampak positif bagi daerah sekitar juga memberikan dampak negatif yang tidak sedikit⁽¹⁰⁾.

Dampak positif yang di berikan oleh industri tepung tapioka antara lain memberikan nilai tambah produksi singkong yang di hasilkan petani sekaligus merupakan komoditi ekspor non migas, menambah lapangan pekerjaan bagi masyarakat di sekitar pabrik, dan lain-lain. Sedangkan dampak negatifnya adalah tercemarnya lingkungan yang di sebabkan oleh limbah industri^(4,9,10).

Limbah pabrik tepung tapioka termasuk limbah biologik karena di timbulkan sebagai sisa perusahaan ketela pohon yang merupakan salah satu bahan biologi. Ada dua macam limbah yang di hasilkan oleh pabrik tepung tapioka yaitu limbah yang berupa ampas ketela pohon (onggok) dan limbah cair yang terutama berupa air buangan dari separator. Di beberapa daerah limbah padat (onggok) dimanfaatkan sebagai campuran bagi makanan ternak tanpa pengolahan dan sebagai bahan dasar pembuatan asam sitrat. Limbah cair yang dihasilkan langsung dibuang ke sungai setelah melalui proses pengolahan limbah karena tidak diambil manfaatnya^(9,11).

Komponen yang terkandung dalam limbah padat dan limbah cair tepung tapioka dapat di lihat pada tabel 2 dan tabel 3.

Tabel. 2 : Komposisi Limbah Padat Tepung Tapioka (onggok)

Komponen	Kandungan %
Kadar air	75,0-80,0
Protein	5,3
Karbohidrat	56,0
Lemak	0,1
Kadar abu	2,7
Kadar serat	35,9

Sumber : Grace (1977) dalam Dang B.F. (1995)

Tabel. 3 : Komposisi Limbah Cair Tepung Tapioka.

Komponen	Kandungan %
Karbohidrat	0,260
Protein	0,250
Lemak	0,035
Serat kasar	0,200
Air	99,250

Sumber : Abbas (1985) dalam Dang B.F. (1995)

II. 2. Aspek Biologi *Rhizopus Oryzae*.

Rhizopus oryzae went dan Prinsen Geerlings : gumpalan-gumpalan miseliumnya berwarna abu-abu sampai pirang. Tebalnya dapat mencapai 2-3 cm, tebal benang-benang hifa 10-25 μ dan mula-mula hifa itu berwarna putih kemudian menjadi abu-abu atau pirang. Pada *Rhizopus oryzae* terdapat pendukung, sporangiumnya yang terpisah-pisah dan dapat mencapai panjang sampai 14 cm. Dapat pula pendukung sporangium itu muncul dari tempat-tempat dimana di situ terdapat alat-alat semacam rizoid. Pada sporangium *Rhizopus Oryzae* pada waktu muda berwarna putih, kemudian berangsur-angsur akan berubah menjadi pirang. Besarnya berbeda-beda dapat mencapai diameter 150 μ , dinding sporangium sering mempunyai kristal-kristal CaC_2O_4 ⁽²¹⁾.

Rhizopus oryzae memiliki dua macam klamidospora :



- a. Klamidospora terminal pada miselium yang berfungsi untuk mengabsorpsi larutan makanan.
- b. Klamidospora interkalar yang berfungsi untuk menyangga kotak spora.

Rhizopus oryzae juga di temukan dalam ragi, terutama sebagai pembentuk dekstrosa, selain itu ia dapat mengkhamirkan gula menjadi etanol. Cendawan ini dapat di pelihara dengan menggunakan pepton, asparingin, ureum, amonium sulfat sebagai sumber nitrogen dan pepton, dekstrosa, sukrosa, sebagai sumber karbon.

Di Indonesia penting dalam pembuatan tempe & oncom putih, yang dalam hal ini dapat mengubah senyawa-senyawa yang sulit di cernakan menjadi senyawa-senyawa yang mudah untuk di cerna ⁽²¹⁾.

II.3 Protein Sel Tunggal (PST)

Protein sel tunggal adalah sel kering suatu jenis mikroorganisme seperti alga, khamir, kapang dan bakteri yang ditumbuhkan pada sistem kultur tertentu yang berskala besar dan di gunakan sebagai sumber protein dalam pangan dan pakan ⁽⁶⁾. Selain kandungan protein, dalam protein sel tunggal juga dapat ditemukan adanya karbohidrat, vitamin, lemak dan mineral. Produk ini memiliki potensi yang sangat penting sebagai sumber protein, vitamin dan mineral yang dapat dibuat dari bahan non pangan atau limbah yang bermutu rendah ⁽⁷⁾.

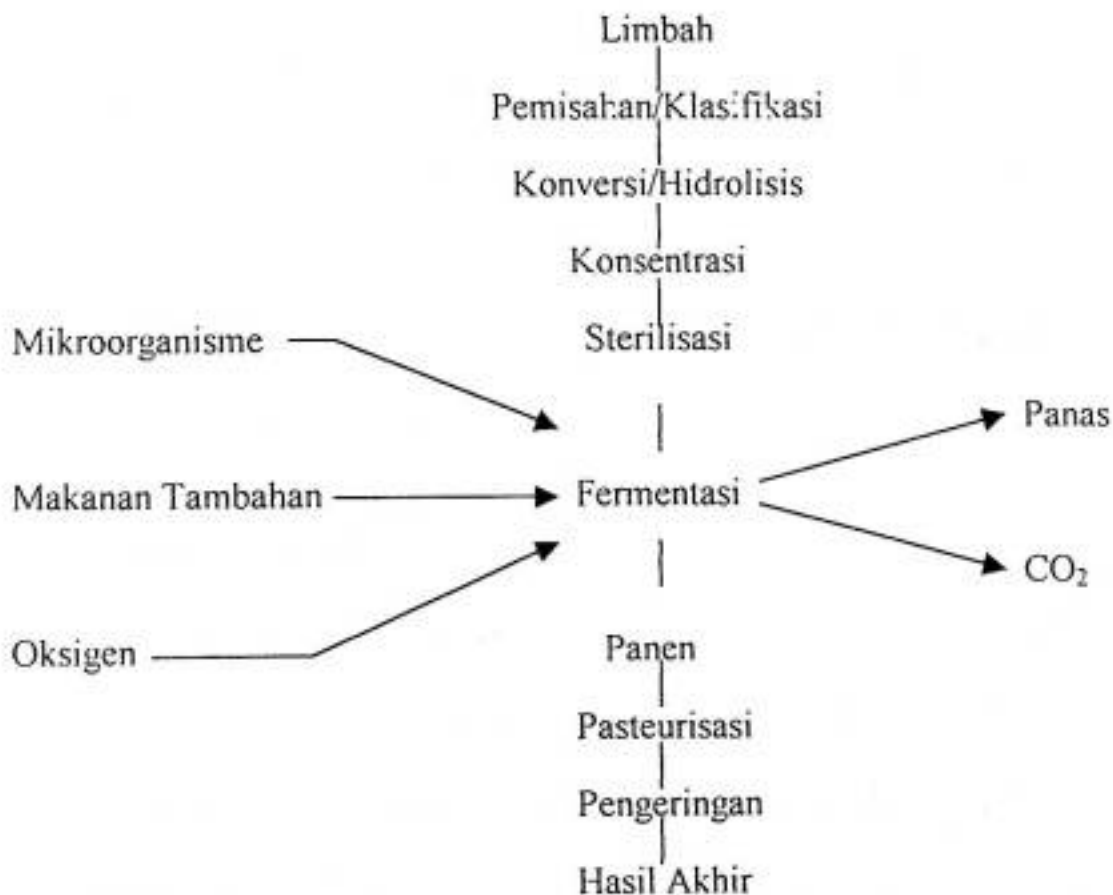
Produksi protein sel tunggal merupakan suatu proses bioteknologi yang mulai dikenal di Inggris pada tahun 1879, dengan diperkenalkannya adonan yang dianginkan untuk membuat ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*). Teknik produksi

protein sel tunggal terus berkembang, pada Perang Dunia I di Jerman, ragi roti dihasilkan untuk dikonsumsi sebagai tambahan protein penduduk. Mollase (tetes) dipakai sebagai sumber karbon dan energi untuk membiakkan ragi, sedangkan garam amonium dipakai sebagai sumber nitrogen. Setelah itu teknik pembuatan protein sel tunggal terus berkembang hingga sekarang dengan berbagai modifikasi baik sumber substrat maupun jenis mikroorganisme yang dipakai ^(6,7).

II.4. Pembuatan Protein Sel Tunggal (PST)

Pembuatan protein sel tunggal secara sederhana dapat di lihat dalam skema berikut :

Gambar 1. Skema Pembuatan Protein Sel Tunggal dari limbah



Sumber: Said 1987 ⁽¹⁶⁾

II.4.1 Substrat

Pemilihan substrat pada pembuatan protein sel tunggal tergantung pada banyak faktor (sesuai dengan keadaan setempat). Faktor-faktor tersebut di antaranya kandungan karbohidrat atau selulosa yang tinggi, biaya pengadaan murah, ketersediaan bahan baku cukup serta tidak mengandung bahan toksik seperti logam berat dan bahan kimia ^(4,6,7,12).

Bahan baku substrat pembuatan protein sel tunggal dapat dibagi dalam 3 kategori besar, yaitu ^(4,13):

1. Bahan-bahan sumber energi bernilai tinggi misalnya gas alam, n-alkana dari berbagai hidrokarbon berantai panjang, alkohol, asam organik, aldehid, dan lain-lain.
2. Bahan-bahan limbah seperti ampas tebu, "whey" dari pabrik susu atau keju, limbah pabrik kertas, sampah rumah tangga, kotoran hewan, limbah pabrik tapioka dan limbah pabrik pengolahan buah.
3. Bahan-bahan yang berasal dari tumbuhan seperti zat pati, gula, dan selulosa misalnya jerami dan kayu.

II.4.2 Mikroorganisme

Menurut F.X.Roth dalam Rao ⁽¹²⁾, mikroorganisme memiliki beberapa keuntungan dalam memproduksi protein karena pertumbuhan atau pergantian generasinya cepat (bakteri 0,5-2 jam, alga 2-4 jam, khamir 1-3 jam), kandungan proteinnya tinggi (45-85%) dan biasanya juga kaya akan vitamin dan mineral.

Spektrum pertumbuhannya luas terhadap bahan-bahan alam serta mudah dimodifikasi secara genetik.

Mikroorganisme yang di gunakan harus memenuhi persyaratan tertentu antara lain tidak boleh menghasilkan senyawa-senyawa toksik, pemeliharaannya tidak rumit, tumbuh cepat, dapat menggunakan bahan-bahan mentah sebagai sumber nutrisi dan dapat dijadikan sebagai bahan pangan dan pakan dengan nilai gizi tinggi⁽⁴⁾.

Beragam-macam kapang, khamir, bakteri dan alga dapat dipergunakan dalam proses fermentasi untuk menghasilkan protein sel tunggal, masing-masing golongan mikroorganisme tersebut memiliki kelebihan. Jenis kapang yang telah sering di gunakan antara lain *Chaetomicum celluloticum* dapat mengubah selulosa menjadi protein sel tunggal⁽⁷⁾. Dari jenis alga yang telah di gunakan di antaranya genus *Spirulina*, *Scenedesmus acutus* dan *Chlorella sp.* Golongan bakteri yang dapat digunakan antara lain *Pseudomonas*, *Hydrogenomous*, *Methylomonas*, dan lain-lain. Golongan khamir diantaranya adalah *Candida utilis*, *C. quillieermodii*, *C. lipolytica*, *C. tropicalis*, *Torulopsis*, *Rhodotorula sp.* yang sudah sering di pergunakan adalah *Trichosporan pollulans*, *Rhizopus* dan *Fusarium gramineum*^(7,14,15).

Keuntungan alga sudah tidak membutuhkan substrat organik karena dapat menggunakan energi dari sinar matahari dan CO₂ dari udara, nilai gizinya tinggi dan mudah dipanen. Kekurangannya yaitu penggunaan alga terbatas karena kondisi geografisnya membutuhkan suhu yang hangat dan cukup rumit⁽⁷⁾.

Keuntungan kapang mudah dipanen karena dapat tumbuh dalam bentuk benang atau pelet jika dikultur dalam fermentor yang diberi udara. ini menyederhanakan cara pengambilan produknya, karena miselium yang berbentuk benang atau pelet dapat dengan mudah dipisahkan dari media dengan cara menapis atau dengan menggunakan saringan vakum yang berputar atau dengan saringan yang bertekanan yang berbiaya rendah ⁽¹⁵⁾. Sedangkan masalah yang timbul pada penggunaan kapang adalah kecepatan pertumbuhannya yang lambat dan membutuhkan kondisi yang benar-benar steril ^(4,15).

Bakteri mampu tumbuh pada berbagai substrat, waktu generasinya pendek dan kandungan protein yang tinggi merupakan kelebihan yang dimiliki bakteri dalam proses pembentukan PST. Namun penggunaannya terbatas karena berukuran kecil sehingga sukar pemanenannya. Selain itu juga memerlukan pencucian sel secara teliti dan ketat ^(15,16,17).

Mikroba yang paling banyak digunakan dalam pembuatan PST adalah khamir karena memiliki sifat-sifat keuntungan dibanding golongan mikroba lainnya yakni rendah kandungan asam nukleatnya, lebih mudah pemanenannya, dapat tumbuh pada pH rendah atau menekan pH lingkungannya sehingga proses pertumbuhannya tidak membutuhkan lingkungan yang benar-benar steril ^(1,17).

Proses pembuatan PST dari limbah tapioka dapat dibagi atas 5 tahap yaitu : ⁽¹⁴⁾.

1. Penyiapan media (substrat dan sterilisasi)
2. Fermentasi (penyiapan starter dan fermentasi utama)
3. Pemanenan
4. Pasteurisasi
5. Pengeringan

Skema umum pembuatan PST dapat dilihat pada gambar 1.

Pada proses fermentasi, bahan yang dimasukkan meliputi substrat, suplemen mineral, inokulum (mikroba), oksigen, dan energi. Hasil fermentasi itu sendiri meliputi biomassa sel, CO_2 , panas dan residu. Teknik pra perlakuan, sterilisasi, pengaturan pH, suhu dan suplemen mineral dibutuhkan untuk mencapai pertumbuhan mikroorganisme secara optimal, faktor-faktor ini berbeda pada masing-masing kultur dan kondisi fermentasi ^(14,16).

II. 3. 3 Variabel Yang Mempengaruhi Produksi PST

Pada organisme yang bersel satu, yang disebut pertumbuhan adalah pertambahan jumlah sel atau pertambahan jumlah organisme (biomassa sel). Beberapa kondisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah sumber energi, nutrisi, inhibitor, kondisi fisik dan kimia yang cocok ⁽¹⁴⁾.

Laju pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh berbagai variabel yang secara langsung juga mempengaruhi produksi biomassa sel, variabel tersebut antara lain : ⁽¹⁸⁾.

I. Komposisi substrat

Komposisi penyusunan media (substrat) berpengaruh langsung pada laju pertumbuhan mikroba. Suplai sumber karbon salah satu variabel yang perlu diperhatikan untuk mencapai kondisi pertumbuhan optimal. Menurut Litchfield dalam Marx ⁽¹⁵⁾ konsentrasi karbohidrat yang dibutuhkan oleh kapang dalam media biakan berkisar 10 % dan sebagai sumber nitrogen dan tambahan mineral dimasukkan kedalam media, biasa dipakai amonia atau garam amonium.

Selain sumber karbon, sumber nitrogen dan sumber mineral, perlu ditambahkan pada substrat sebagai bahan pemacu pertumbuhan. Sumber nitrogen yang biasa diberikan untuk kapang adalah gas amonia, garam-garam amonia dan garam nitrat sebagai sumber nitrogen anorganik. Logam-logam magnesium, fosfat, sulfur dan khlor merupakan suplemen mineral yang biasa diberikan pada kapang ^(15,19).

2. Nilai pH

Nilai pH mempengaruhi laju pertumbuhan mikroorganisme karena pH mempengaruhi fungsi membran, enzim dan komponen sel lainnya. Pengaruh pH dapat menggumpalkan protein pada titik isoelektriknya serta mempengaruhi kelarutan konstituen ^(18,19). Selama fermentasi pH mempunyai kecenderungan berubah. Bila sumber nitrogen adalah amonia, maka pH cenderung menurun karena amonia dalam larutan bergabung dengan sel-sel mikroorganisme membentuk $R-NH_3^+$. Sehingga ada 1 ion H^+ tertinggal dalam media. Bila sumber nitrogen adalah nitrat, maka pH cenderung naik, sebab ion-ion nitrogen diambil dari media untuk mereduksi NO_3 menjadi $R-NH_3^+$. Begitu pula jika senyawa-senyawa amino sebagai sumber nitrogennya, pH cenderung naik sebab senyawa-senyawa tersebut dieliminasi ⁽¹⁴⁾.

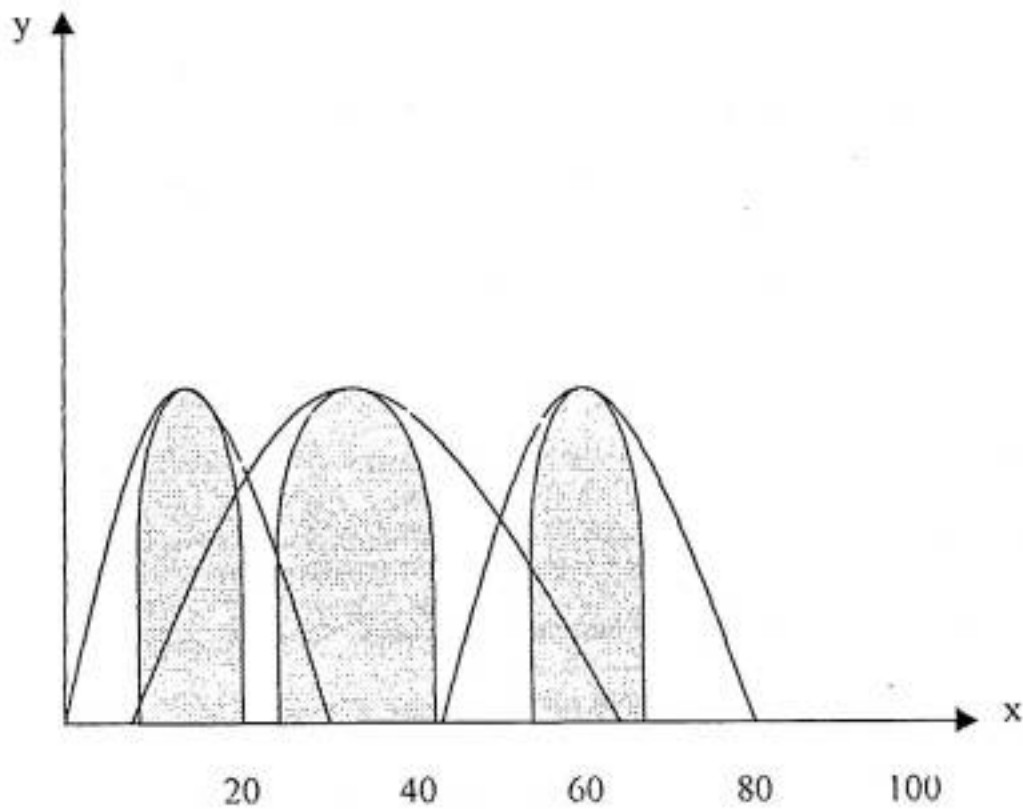
Sebab lain terjadinya perubahan pH adalah jika asam-asam organik seperti asam laktat, asam piruvat, atau asam asetat diproduksi selama fermentasi ⁽¹⁹⁾.

Sebagian besar kapang tumbuh subur pada pH 3,0-7,0. Namun lebih banyak yang ditanam pada pH di bawah 5,0 ⁽¹⁵⁾.

3. Suhu

Terdapat 3 jenis kurva laju pertumbuhan terhadap fungsi suhu, yaitu untuk psikrofilik, mesofilik dan termofilik.


Gambar 2. Kurva laju pertumbuhan mikroba terhadap suhu



Keterangan :

Sumbu x = suhu ($^{\circ}$ C)

Sumbu y = Laju pertumbuhan

 = Suhu optimum

Sumber : Dwidjoseputra, 1998 ⁽²⁰⁾

Bila suhu dinaikkan ke arah suhu pertumbuhan optimal, maka kecepatan pertumbuhan rata-rata akan meningkat 2 kali lebih cepat. Laju pertumbuhan akan turun cepat jika suhu dinaikkan di atas suhu pertumbuhan optimal. Kapang dan jamur tingkat tinggi akan tumbuh subur pada suhu kisaran 25-36⁰C⁽¹⁵⁾.

4. Aerasi dan Agitasi

Mikroorganisme dibedakan atas 3 kelompok berdasarkan kebutuhan akan oksigen yaitu yang bersifat aerobik, anaerobik dan anaerobik fakultatif⁽¹²⁾. Produksi PST menggunakan mikroorganisme aerobik yang aerasinya disuplai langsung dari udara.

Aerasi dan agitasi merupakan faktor yang sangat penting dalam proses fermentasi aerobik. Fungsi utamanya adalah untuk mensuplai kebutuhan oksigen bagi aktifitas metabolisme mikroorganisme dan untuk mengaduk agar mikroorganisme yang digunakan dapat bercampur baik dengan substrat (homogen) selama berlangsungnya proses fermentasi⁽¹⁶⁾.

II. 3.4 Kualitas dan Keamanan Produk

Protein sel tunggal memiliki nilai nutrisi tinggi dan mengandung asam-asam amino esensial yang diperlukan bagi pertumbuhan⁽⁴⁾. Tabel 2 dan 3 memperlihatkan perbandingan komposisi zat dan kandungan asam amino beberapa mikroorganisme dengan sumber protein lain^(12,17).

Tabel 4. Perbandingan Komposisi dari Susu, Telur Ayam, dan Mikroorganisme (%)

Komposisi	Susu	Telur Ayam	Alga	Khamir	Bakteri
Protein	28	49	51	48	31
Karbohidrat	39	3	27	33	28
Lemak	28	44	7	5	6
Serat Kasar	0	0	6	2	6
Abu	6	4	9	8	10
Kalori	5,2	6,2	3,6	3,5	2,6

Sumber: Buckle, 1987⁽¹⁷⁾

Tabel 5. Perbandingan Komposisi Beberapa Asam Amino Dengan Sumber Protein Lain (gram/100 gram kandungan protein)

Jenis	Tepung ikan	Telur Kedelai	Alga	Khamir	Bakteri
Lisin	6,4	6,4	5,7	7,4	6,2
Metionin	2,7	1,5	1,6	1,5	2,4
Sistin	1,1	1,5	0,7	1,0	1,6
Treanin	4,5	4,0	5,2	4,9	4,6
Triftopan	1,2	1,3	1,3	1,3	1,0

Sumber: Buckle, 1987⁽¹⁷⁾

Komposisi utama asam nukleat adalah guanin dan adenin yang dimetabolisme menjadi asam urat. Asam urat merupakan produk akhir metabolisme purin (adenin dan guanin), karena masalah kekurangan enzim urikase yang dapat mengoksidasi asam urat menjadi allantoin sebagai metabolit terlarut dan mudah diekskresi. Peningkatan konsumsi asam nukleat menyebabkan peningkatan asam urat pada plasma sel dan air seni yang dapat menyebabkan inflamasi pada tulang dan pembentukan batu ginjal^(12,14).

Asam nukleat yang mengandung nitrogen dan membina 5 –15% berat kering sel, jadi jika dikonsumsi oleh manusia kadang harus dibatasi sampai 2 gram/hari. Jika sel-sel itu diberi asam, basa atau enzim maka asam nukleat itu dapat dipisahkan dan dikeluarkan⁽¹⁵⁾.



BAB III

ALAT, BAHAN DAN METODE KERJA

III.1. Alat

Alat-alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Gelas piala
- Corong
- Cawan petri
- Timbangan
- Otoklaf
- Shaker
- Sentrifuge
- Oven
- Ose
- Spoit
- Botol sampel
- Batang pengaduk
- Tabung reaksi
- Spektrofotometer
- Hemositometer

- Mikroskop
- Enkas

III.2. Bahan

Bahan-bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

- Limbah pabrik tepung tapioka
- Biakan murni *Rizopus oryzae*
- Medium Pctato Dextrose Agar (PDA)
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$
- $\text{NH}_4.\text{H}_2\text{PO}_4$
- $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$
- H_2PO_4
- Fehling A
- Fehling B
- Alfanaftol
- Isopropanol
- Etanol
- Etil asetat
- Benzen
- Asam. Tartrat
- H_2SO_4

- HNO_3
- Na_2CO_3
- KMnO_4
- Kapas
- pH meter
- Kertas saring
- Aluminium foil
- NaOH
- Tembaga sulfat
- Natrium kalium tartrat
- Pereaksi fenol
- Albumin fraction V

III. 3. Metode Kerja

III. 3.1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi untuk alat-alat yang terbuat dari gelas seperti erlenmeyer, gelas piala, tabung reaksi dan alat-alat yang tahan terhadap panas tinggi dilakukan dengan cara sterilisasi kering yaitu menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan untuk alat-alat yang tidak tahan panas tinggi seperti alat-alat yang terbuat dari plastik disterilkan dalam otoklaf dengan suhu 121°C . tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

III. 3.2. Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel berupa limbah padatan diambil dari limbah pabrik tapioka yang berada di Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan. Sampel tersebut kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup yang bersih.

Penyiapan sampel dilakukan di laboratorium, sampel ditimbang sebanyak yang diperlukan sesuai perlakuan.

III. 3.3. Penyiapan Substrat

Sampel yang telah disiapkan (ditimbang sebanyak 50 gr untuk setiap satu kali hidrolisis) dimasukkan dalam tabung blender sampai halus, ditambahkan asam tartrat hingga pHnya mencapai sekitar 4,0 dan dipanaskan pada suhu 80-100⁰C selama 1 jam. Kemudian ditambahkan asam tartrat hingga pH 2-3 dan dihidrolisis sempurna pada suhu 121⁰C, tekanan 2 atm selama 2 jam. Kemudian hasil hidrolisis disaring.

III. 3.4. Analisa Kualitatif dan Kuantitatif Hasil Hidrolis

III. 3.4.1. Analisa Kualitatif Hasil Hidrolisis

Untuk mengidentifikasi adanya gula dalam hasil hidrolisis dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan pereaksi Fehling A dan Fehling B.

Fehling A : Larutan substrat ditambah sama banyak dengan pereaksi Fehling A, terbentuk endapan merah bata.

Fehling B : Larutan substrat ditambah sama banyak dengan pereaksi Fehling B, terbentuk endapan merah bata.

III. 3.4.2. Analisa Kualitatif Hasil Hidrolisis

A. Pembuatan Pereaksi

Pereaksi Somogy I

Sebanyak 200 gr Na_2SO_4 dilarutkan kedalam 1000 ml air mendidih, ditambahkan 24 gr Rochella (Natrium Kalium Tartrat), 48 gr Na_2CO_3 dan 32 gr NaHCO_3 . Volumanya dicukupkan sampai 1000 ml lalu disimpan pada suhu 27°C sebelum digunakan.

Pereaksi Somogy II

Sebanyak 72 gr Na_2SO_4 dilarutkan dalam 300 ml air yang telah di didihkan 8 gr CuSO_4 , kemudian volumanya di cukupkan hingga ditambahkan 400 ml.

Pereaksi Nelson

Sebanyak 10 gr Amonium molibat dilarutkan dalam 1000 ml air kemudian ditambahkan dengan es. Pekat HCL 84 ml dan 12 gr $\text{Na}_2\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang sebelumnya telah dilarutkan dalam 100 ml air. Larutan tersebut disimpan dalam botol berwarna pada suhu 37°C selama 48 jam sebelum digunakan.

B. Pembuatan larutan Glukosa Standar.

Sebanyak 10 gr D. Glukosa dilarutkan dalam aquadest sampai volumanya 1000 ml. Dimasukkan kedalam enam tabung reaksi ditambahkan kesetiap tabung larutan somogy I dan II dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit dengan mulut tabung tetap tertutup. Dipindahkan ke dalam air dingin selama 5 menit

kemudian di tambah pereaksi Nelson dan di tambahkan dengan akuades sesuai pengeceran.

III. 3.5. Pengukuran dan Penetapan Konsentrasi Gula Substrat

Dibuat larutan gula sebagai pembanding (untuk kurva baku), dengan konsentrasi 0, 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, dan 100 %. Lalu diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm sehingga diperoleh persamaan regresi atau kurva baku hubungan antara log natural absorbansi dengan konsentrasi gula.

Selanjutnya substrat hasil hidrolisis juga diukur absorbansinya, kemudian substrat hasil hidrolisis dipersiapkan untuk diatur konsentrasi gulanya hingga 10 % dengan penambahan suplemen mineral setelah disterilkan.

III. 3.6. Penyiapan Suplemen Mineral

Sumber mineral yang digunakan untuk pembiakan kapang adalah garam anorganik (tiap 1000 ml) seperti : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 10 g ; $(\text{NH}_2) \text{CO}_2$ 10 g ; $\text{NH}_4 \text{H}_2 \text{PO}_4$ 0,1 g ; $\text{KH}_2 \text{PO}_4$ 0,1 g dan $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g . Garam-garam tersebut dilarutkan dalam air kemudian disterilkan.

III. 3.7. Sterilisasi

Substrat dan larutan suplemen mineral yang telah disiapkan sebelumnya, kemudian disterilkan dalam wadah terpisah pada otoklaf dengan suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit, kemudian dicampur hingga konsentrasi gulanya mencapai 10 %.

III. 3.8. Pembuatan Inokulum Starter

Kultur murni *Rhizopus oryzae* dibiakkan pada media agar miring selama 1-2 x 24 jam, selanjutnya diinokulasikan sebanyak 1-3 ose kedalam medium cair (100 ml) dan diinkubasikan selama 2 x 24 jam.

Mikroba starter dibuat sebanyak 10 % dari volume kerja fermentasi (10 % x 150 ml) dengan menginokulasikan kultur murni sebanyak 10 % dari volume starter yang akan dibuat ke dalam erlenmeyer yang berisi media cair dengan konsentrasi gula yang telah dicampur dengan suplemen mineral, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 2-4 x 24 jam. Kemudian diinokulasikan pada media fermentasi.

III. 3.9. Fermentasi

Fermentasi dilakukan di dalam erlenmeyer 250 ml dengan volume kerja 150 ml dengan sistem kultur batch dengan variasi waktu fermentasi 2,4,6,8 dan 10 x 24 jam. Masing-masing perlakuan dikerjakan secara duplo. Selama fermentasi diberikan aerasi dan agitasi dengan menggunakan sheker.

III. 3.10. Pemanenan

Pemanenan dilakukan setelah tercapai waktu fermentasinya (waktu perlakuan). Hasil fermentasi masing-masing selanjutnya disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Pati dan sel (residu) yang diperoleh dicuci dengan menambah air dan disentrifuse kembali, sampai tercuci sempurna. Cairan supernatan dari sentrifugasi pertama kembali diukur kadar gula residunya.

III. 3.11. Pengeringan

Pengeringan dilakukan pada suhu 60°C selama 10 jam dengan menggunakan oven.

III. 3.12. Pengamatan Produk Massa Sel

Pasta sel yang diperoleh pada akhir fermentasi setelah dikeringkan, ditimbang.

Substrat yang telah menjadi massa sel kering dihitung dengan menggunakan rumus :

$$Y_s = Y/G \times 10 \%$$

Y_s = Konversi substrat menjadi massa sel kering

Y = Jumlah massa sel kering (gr)

S = Jumlah gula terpakai (gula total-gula residu).

III. 3.13. Analisa Kadar Protein Produk Protein Sel Tunggal

A. Analisa Kualitatif

Analisa kualitatif terhadap kandungan protein dilakukan dengan menggunakan pereaksi Biuret.

Larutan protein sel tunggal ditambahkan dengan 2 ml NaOH 10 % dan 2 tetes larutan CuSO_4 0,5 %, terbentuk warna ungu.

B. Analisa kuantitatif

Penetapan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode protein dilakukan dengan menggunakan metode Lowry.

Dimasukkan kedalam tabung reaksi protein standar sebanyak 0 (blanko), 1, 2, 3, 4 dan 5 ml kemudian ditambahkan aquades steril sampai volume total masing-masing tabung 5 ml.

Pereaksi natrium karbonat dalam NaOH 0,1 N dicampur dengan pereaksi tembaga sulfat $\text{Ca SO}_4 + \text{Na}$ dalam natrium kalium tartrat 1 % dengan volume yang sama banyak. Campuran pereaksi tersebut kemudian ditambahkan dengan pereaksi fenol.

Campuran ketiga pereaksi fenol tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sebelumnya telah diisi dengan larutan protein standar. Setelah penambahan pereaksi, dikocok dan dibiarkan sampai berbentuk warna biru. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Dibuat kurva kalibrasi yang menunjukkan kadar protein dan absorsinya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Substrat Hasil Hidrolisis

Dari hidrolisis substrat dengan perbandingan 50 gr sampel untuk setiap 250 ml aquades (500 gr : 2.500 ml) diperoleh sebanyak kurang lebih 1.500 ml substrat .

Hasil identifikasi secara kualitatif menunjukkan bahwa dalam substrat yang telah di hidrolisis dan di saring (Filtrat) mengandung gula, ditandai dengan terbentuknya endapan warna merah bata pada substrat setelah di beri pereaksi Fehling A dan Fehling B setelah di lakukan uji kuantitatif di dapatkan kadar gula total sebesar 22,38 % (b/r) (lampiran B, tabel 6). Hasil ini relatif kecil dan belum maksimal, karena menurut Wenzl ⁽²³⁾ bahwa bila proses fermentasi berlangsung sempurna maka akan di peroleh konsentrasi gula total dari oahan biologi yang mengandung karbohidrat sebesar 30 % bahkan bisa lebih. Kecilnya konsentrasi gula yang diperoleh dimungkinkan karena sebagian gula hasil hidrolisis mengalami karamelisasi saat pemanasan dan kondisi asam yang tidak terlalu baik.

Pengenceran konsentrasi gula substrat hasil hidrolisis hingga 10 % berdasarkan pada pendapat yang di kemukakan oleh Said dalam ⁽¹⁴⁾, bahwa kapang akan dapat tumbuh optimal bila di berikan gula sebesar 10 % belum cukup menunjukkan pertumbuhan kapang agar maksimal dalam aktifitasnya, sedangkan jika lebih dari 10 % maka akan terjadi kenaikan tekanan osmotik sehingga dapat menyebabkan sel mengalami plasmolisis yang menurunkan pertumbuhan sel, yang

berakibat kurangnya massa sel terbentuk, berarti protein sel tunggal yang di peroleh juga akan sedikit ⁽²⁴⁾.

Selain itu, menurut Ried dan Pepler dalam Sutonto ⁽⁸⁾, konsentrasi gula yang tinggi akan dapat menghambat sintesis enzim pada rantai respirasi sehingga sumber karbon akan cenderung mengalami fermentasi menjadi alkohol dan karbondioksida. Keadaan ini akan menurunkan jumlah sel yang terbentuk.

IV.2 Produk Protein Sel Tunggal Berupa Massa Sel Kering.

Produk PST berupa massa sel kering yang di peroleh dari semua perlakuan fermentasi (10 unit) berkisar antara 0,5520 gr/150 ml sampai 1,1569 gr / 150 ml volume kerja fermentasi, sebagaimana dapat di lihat pada lampiran B tabel 7.

Berdasarkan hasil yang terlihat pada lampiran B tabel 7 massa sel kering tertinggi ada pada perlakuan 4 x 24 jam, hal ini menunjukkan bahwa pada waktu fermentasi tersebut mencapai maksimum dan memasuki fase stasioner sehingga pada perlakuan waktu berikutnya 6 x 24 jam tidak terlihat adanya pelonjakan berat massa sel kering seperti pada perlakuan 2 x 24 jam ke 4 x 24 jam.

Pengaturan pH perlu di lakukan untuk menunjang pertumbuhan yang optimum, nilai pH optimum untuk pertumbuhan kapang menurut berbagai literatur adalah bervariasi. Khususnya untuk *Rhizopus oryzae*. Menurut Moat ⁽⁹⁾ pH pertumbuhan *Rhizopus oryzae* berkisar antara 4-5 dan optimum pada pH 4,5 sedangkan menurut Admasso dan Korus dalam (6) pH optimum adalah 4,6 dan kisaran pertumbuhannya lebih luas 3-5. Dengan melihat variasi rentang pH tersebut

maka dapat bahwa pH untuk produksi optimum PST dalam penelitian ini adalah 4,5. Sebab berada pada rentang yang umum yang juga menunjukkan bahwa hasil penelitian berada pada kondisi yang sesuai dengan diharapkan.

Pada penelitian ini dari semua perlakuan (2-10 x 24 jam) di akhir fermentasinya terjadi penurunan pH, hal ini dapat di sebabkan karena penggunaan amoniak dan urea dalam suplemen mineral sebagai sumber nitrogen yang dapat menurunkan pH. Penurunan pH dapat pula di sebabkan oleh peningkatan aktifitas enzim yang di hasilkan oleh *Rhizopus oryzae*. Enzim-enzim tersebut mampu mengubah glukosa menjadi asam anorganik sebagai hasil sampingan selama pertumbuhan⁽⁶⁾.

IV. 3. Konversi Substrat Menjadi Protein Sel Tunggal

Nilai efisiensi konversi substrat menjadi protein PST berupa massa sel kering yang diperoleh berkisar antara 11,29 % sampai 53,59 %, sebagai mana dapat dilihat pada tabel 7 lampiran B.

Setelah di lakukan pengukuran pada masing-masing akhir akhir perlakuan diperoleh kadar gula substrat menurun drastis pada perlakuan 4 x 24 jam (setelah perlakuan 2 x 24 jam) dan setelah itu tidak dijumpai lagi adanya penurunan yang drastis bahkan tidak teratur. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan 4 x 24 jam *Rhizopus oryzae* mengkonsumsi gula sebagai sumber karbon lebih cepat guna mempercepat pertumbuhannya.



IV. 4 Kadar Protein dalam Produk PST

Hasil perhitungan kadar protein dibuat melalui kurva baku protein standar (Albumin Fraktion IV) di peroleh hasil 14,19 % sampai 30,13 %, selanjutnya dilihat pada tabel 9 lampiran B.

Hal ini menunjukkan masih rendahnya kadar protein yang dihasilkan jika dibandingkan yang dikemukakan oleh Pahl dalam ⁽¹⁷⁾ bahwa kandungan protein untuk kapang berkisar antara 40-45 % (b/v).

Rendahnya kadar protein yang diperoleh dalam penelitian ini mungkin di karenakan belum sempurnanya proses pengeringan yang di lakukan. Juga bisa disebabkan oleh adanya massa kontaminan lainnya yang bukan massa sel, yang masih tertinggal pada produk karena kemungkinan tidak tersaring sempurna saat setelah di hidrolisis.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat di simpulkan bahwa :

1. Limbah padat Tepung Tapioka dapat di manfaatkan sebagai substrat untuk peradukan PST dari proses fermentasi dengan menggunakan Kapang *Rhizopus oryzae*.
2. Produk massa sel keringkan yang di hasilkan berkisar 0,5520 gr/150 ml sampai 1,1569 gr/150 ml volume fermentasi; dengan hasil optimum di peroleh pada waktu fermentasi 4 x 24 jam dengan kadar protein 30,13 %.
3. Waktu fermentasi yang tepat sangat mempengaruhi produksi massa sel dan kadar protein.

V.2 Saran

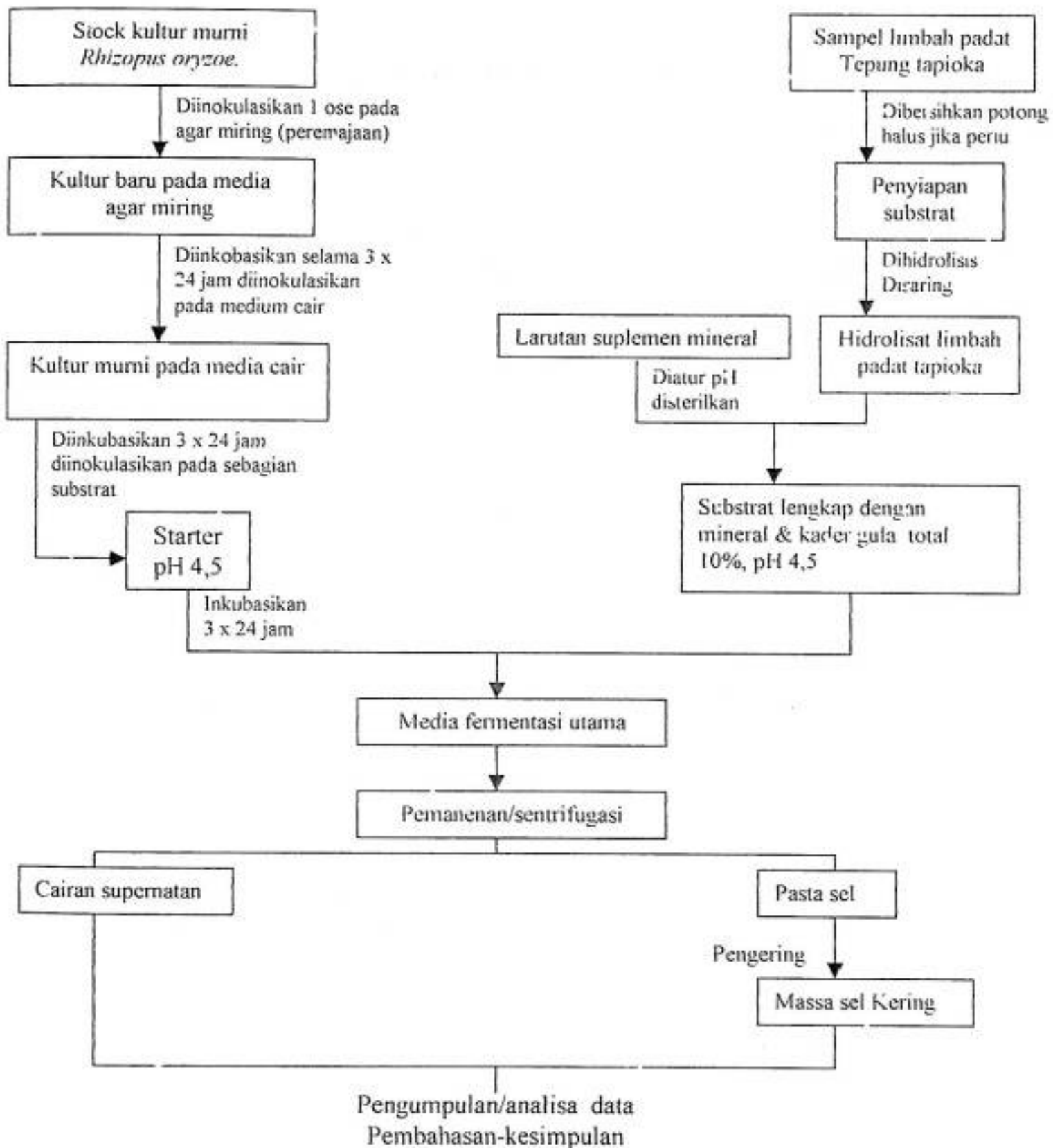
Perlu di lakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh jumlah spora yang di variasikan untuk jenis substrat dan kapang yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

1. Winarno, F.G. 1988. *Kimia pangan dan Gizi*. PT Gramedia Jakarta.
2. Noatimin, M. R. 1988. *Faktor Sosial Budaya Yang Mempengaruhi Status Gizi Masyarakat*. Materi Seminar Ilmiah PER-GIZI Pangan. Ujung Pandang.
3. Fennema, O.R. 1976. *Principles Of Food Sciences*. Maral Dekker Inc. New York.
4. Ganjaar, I. 1978. *Protein Sel Tunggal Sebagai Sumber Protein Non Konvensional dan Prospek Pengembangannya*. Biro Publikasi Ilmiah LIPI. Jakarta.
5. Alani, D. I dan Young, M. 1986. *Perspective in Biotechnology and Applied Microbiology*. Elvies Applied Science Publisher. London.
6. Litchfield, J. H. 1983. *Single Cell Protein*. Science Publisher. New York.
7. National Research Council. 1979. *Microbial Processes. Promising Technologies for Developing Countries*. National Academic of science. Washington DC.
8. Anonim. 1984. *Studi Penanganan Limbah Cair Pabrik Tepung Tapioka di Kaloran Temanggung*. Kerja sama Pusat KUD Jawa Tengah dengan Kalkutas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM). Yogyakarta.
9. Herry Suwarsono, 1985. *Netralisasi Limbah Cair Industri Tepung Tapioka dengan Kolam Stabilisasi Aerobik dengan Menggunakan Biofilter Enceng Gondok (*Ecchhornia crassipes*) dan Kapu Kapu (*Salvinia molesta*)*. Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.
10. Alani, D. I. And Young, M.M. 1986. *Perspectives in Biotechnology and Applied Microbiology*. Elsevier Applied Sciences London.
11. Chaterine, Y. 1994. *Studi Optimasi Konsentrasi Suspensi Onggok, Alfa amilase dan Aniloglukosidase Pada Hidrolisis Onggok Tapioka*. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
12. Rao, N.S.S. 1981. *Advences in Agricultural Microbiology*. Butter Worth Scientific London.
13. Rose, A.H. (ed). 1979. *Economic Mikrobiology IV, Microbial Biomass*. Academic Press. New York.

14. Said. E.G. 1987. *BIOINDUSTRI: Penerapan Teknologi Fermentasi*. PAU Bioteknologi, IPB. PT MSP Bandung.
15. Jean L. Marx. 1991. *Revolusi bioteknologi*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
16. Hartadi. S. 1989. *penanganan Limbah Secara Hayati*. PAU Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
17. Buckle, K.A. 1987. *Ilmu Pangan*. UI Press. Jakarta.
18. Solomons, G.L. 1987. *Single Cell Protein*. Critical Review in Biotechnology, London.
19. Rachman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Dep. Dikbud Dirjen Pendidikan PAU Pangan dan Gizi. IPB Bogor. Bandung.
20. Dwidjoseputro, D. Prof. Dr. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. PT Djambatan, Jakarta.
21. Gembong, T. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Gajah Mada Press. UGM. Jogjakarta.
22. Dang. BF. 1995. *Toksisitas dan Imunogenitas Pigmen angkak yang diproduksi dari Limbah Cair Tapioka*. Skripsi Sarjana Fakultas Teknologi Pertanian ITB, Bogor.
23. Wenzl, H.F.J. 1970. *The Chemical Technology of Wood*. Academic Press, New York and London.

Lampiran A



Gambar 1 b
Skema kerja pengaruh waktu fermentasi terhadap produksi protein sel tunggal dari substrat limbah padat tapioka dengan menggunakan *Rhizopus Oryzae*

Lampiran B.

DATA HASIL PENELITIAN

Tabel 6. Hasil pengukuran persen Transmisi larutan gula standar (1 gr D. glukosa dalam 1000 ml) dan substrat hasil hidrolisis.

Konsentrasi (% b/v)	Transmitan (%)	Absorbansi
20	79	0,10
40	63	0,20
60	51	0,29
80	41	0,39
100	30	0,48

Dari perhitungan regresi linear hubungan antara konsentrasi gula dengan absorbansi diperoleh persamaan sebagai berikut :

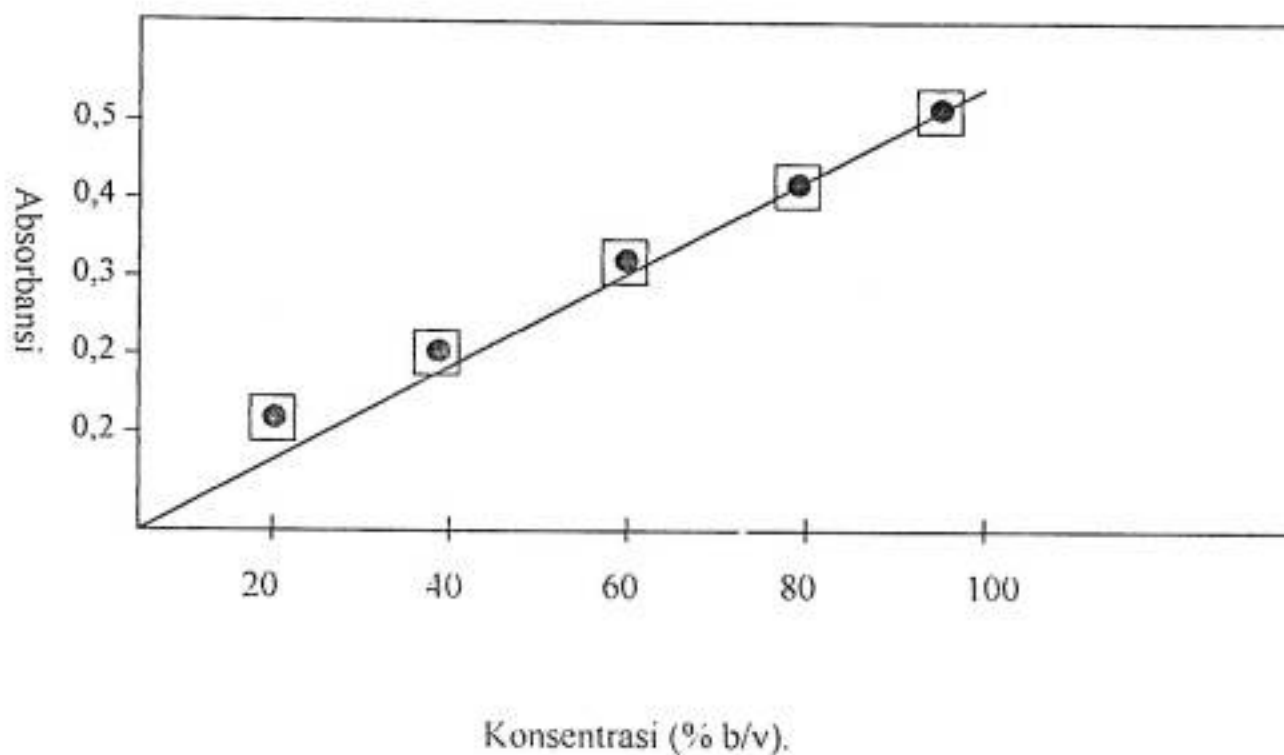
$$A = 8,57 \cdot 10^{-3}$$

$$B = 4,73 \cdot 10^{-3}$$

$$Y = 8,57 \cdot 10^{-3} + 4,73 \cdot 10^{-3}x$$

$$R = 0,999$$

Dengan persamaan ini maka diperoleh kadar gula substrat sebesar 22,32 % (b/r).



Persamaan kurva : $y = 8,57 \cdot 10^{-3} + 4,73 \cdot 10^{-3}x$

Koefisien regresi : $R = 0,999$

Gambar : Kurva hubungan konsentrasi gula standar dengan absorbansi.

Tabel 7. Hasil Penimbangan Massa Sel Kering Produk Protein Sel Tunggal (gr/150 ml fermentasi)

Perlakuan waktu fermentasi (x 24 jam)	Reflikasi		Jumlah	Rata-rata
	I	II		
2	0,5520	0,5521	1,1014	0,55205
4	1,1552	1,1569	2,3121	7,15605
6	0,8511	0,8497	1,7008	0,8504
8	0,7923	0,8124	1,6047	0,80235
10	0,8987	0,8960	1,7947	0,89735

Jumlah spora *Rhizopus oryzae* yang ditimbulkan dalam fermentasi adalah sebanyak 2.10^7 spora/150 ml fermentasi.

Tabel 8. Hasil Perhitungan Efisiensi Konversi Substrat Menjadi Massa Sel Kering (%)

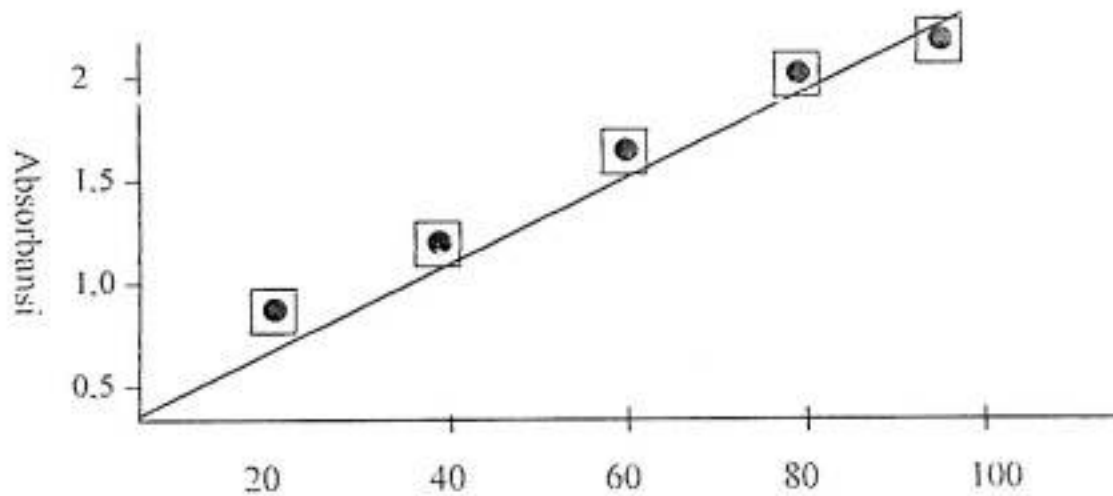
Perlakuan waktu fermentasi (x 24 jam)	Reflikasi		Jumlah	Rata-rata
	I	II		
2	5359	53,57	107,16	53,58
4	21,18	21,16	42,34	21,17
6	13,47	12,97	26,44	13,22
8	11,76	11,29	23,05	11,53
10	12,55	12,13	24,68	12,34

Tabel 9. Hasil pengamatan kadar gula residu dan pH akhir perlakuan waktu.

Perlakuan waktu fermentasi (x 24 jam)	Reflikasi (kadar gula) b/v		pH
	I	II	
2	8,97	8,96	6
4	4,53	4,49	4
6	3,68	3,67	4
8	3,26	3,20	4
10	2,84	2,97	4

Tabel 10. Hasil pengukuran % transmittan dengan konsentrasi larutan protein standar 0,1 gr Albumin dalam 100 ml aquades (b/v)

Konsentrasi (b/v)	Transmittan (%)	Absorbansi
20	32	0,495
40	15	0,823
60	7	1,155
80	5	1,301
100	2	1,699



Dari perhitungan regresi linear diperoleh persamaan garis lurus dan hubungan konsentrasi protein dengan Absorbansi sebagai berikut .

$$Y = A + B X$$

$$A = 0,120$$

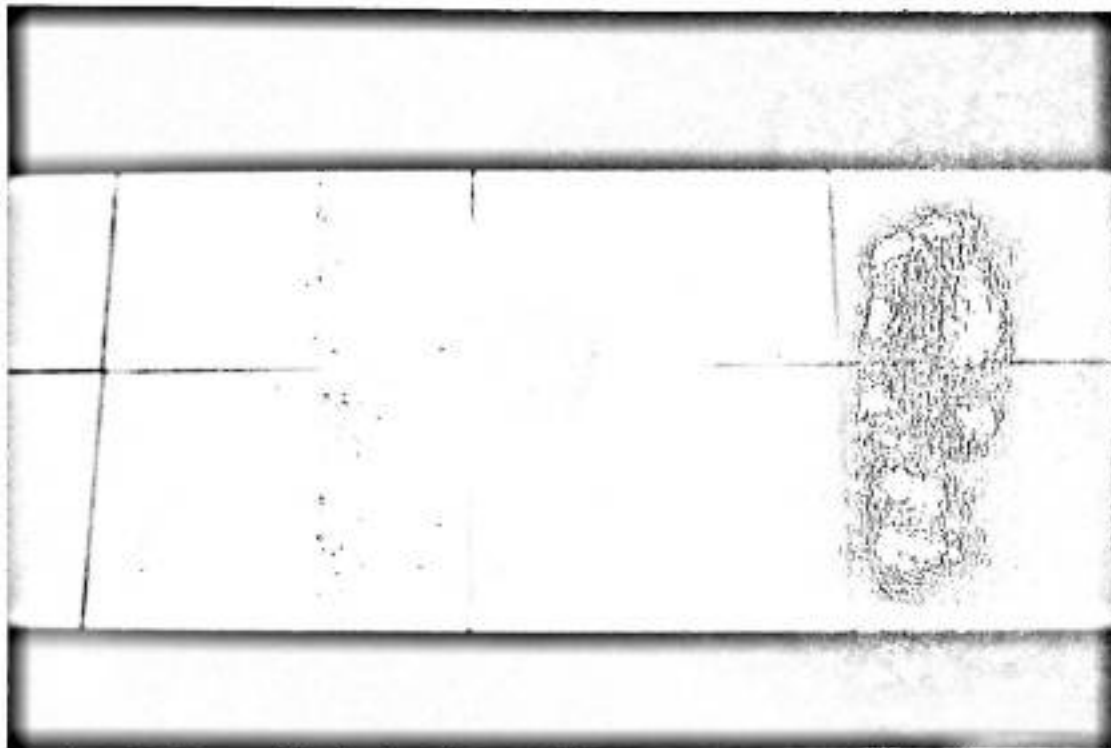
$$B = 0,016$$

$$R = 0,992$$

Tabel 11. Hasil perhitungan kadar protein dari protein Sel Tunggal (% b/v).

Perlakuan waktu fermentasi (x 24 jam)	Reflikasi		Jumlah	Rata-rata
	I	II		
2	14,19	14,20	28,39	14,195
4	30,13	30,1	60,23	30,115
6	28	28,01	56,01	28,005
8	29,06	29,1	58,16	29,08
10	27,56	27,53	55,09	27,545

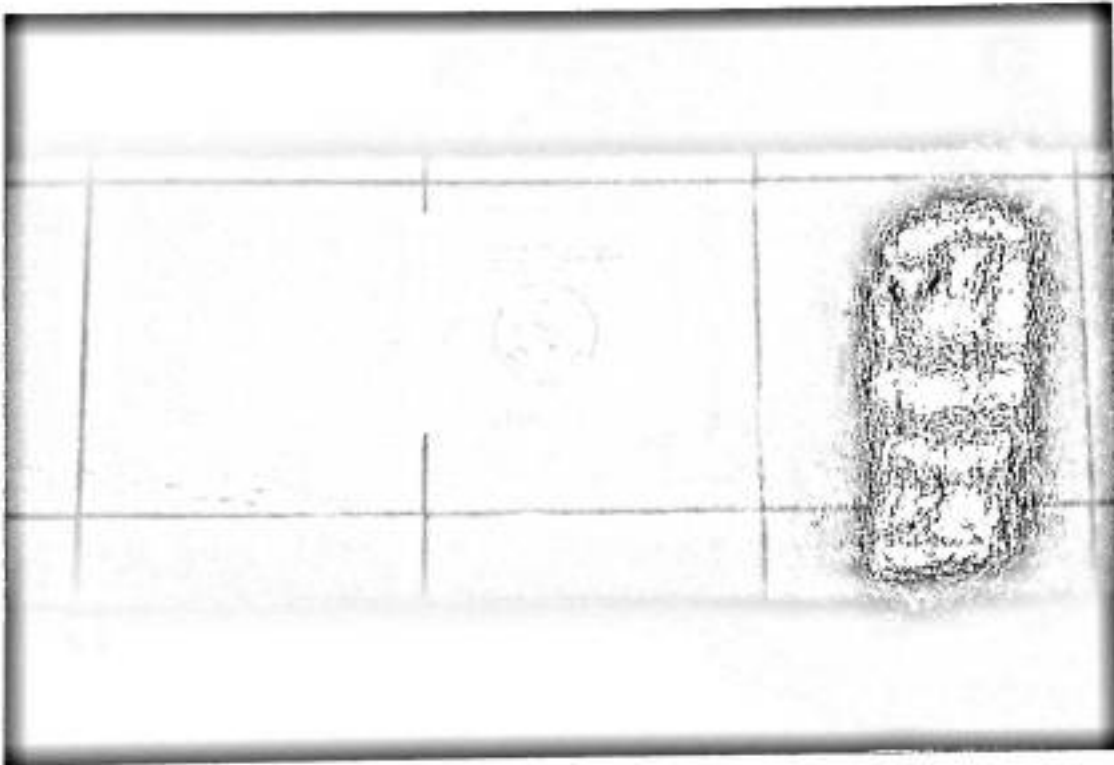
Lampiran C.



Gambar 7. Sampel limbah padat tapioka



Gambar 8. Perlakuan fermentasi substrat



Gambar 9. Pasta sel



Gambar 10. Proses pemisahan supernatan dengan pasta sel