

OPTIMASI PEMBUATAN PROTEIN SEL TUNGGAL  
*Rhizopus* sp. UQM 186F DARI UBIKAYU SEGAR<sup>1)</sup>

OPTIMIZATION OF PRODUCTION OF SINGLE CELL PROTEIN  
 FROM FRESH CASSAVA BY *Rhizopus* sp.

Endang Sukara<sup>2)</sup>, Aidilfiet Chatim<sup>3)</sup>  
 dan Dwilaksmi Irawati<sup>3)</sup>

ABSTRACT

*Rhizopus* sp. UQM 186F grow excellently well on fresh shredded cassava tuber. Variety of cassava used and its preparation are significantly affecting protein synthesis. ADIRA I variety without the removal of its outer skin found conversion process could slightly increase by adjustment of the concentration of nutrient e.g. Urea, Zn, and Mg and the length of incubation period. The highest protein produced (7.08 g/l) was achieved in the following medium formula (g/l) : 150 fresh shredded cassava tuber, 4.0 of Urea, 0.015 of  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  and 0.55 of  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  with the incubation time of 74 h.

RINGKASAN

*Rhizopus* sp. UQM 186F dapat tumbuh dengan sangat baik pada ubikayu segar yang diparut. Varietas ubikayu yang digunakan dan cara penyiapannya mempengaruhi secara nyata sintesa protein. Varietas ADIRA I tanpa pengupasan kulit luarnya merupakan medium yang terbaik untuk konversi menjadi protein. Proses konversi meningkat dengan penyesuaian konsentrasi nutrisi, seperti Urea, Zn dan Mg, serta lamanya inkubasi. Produksi protein yang tinggi (7.08 g/l) diperoleh dari formula medium berikut (dalam 1 liter): 150 g umbi ubikayu yang diparut, 4.0 g Urea, 0.015 g  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  dan 0.55 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  serta 74 jam inkubasi.

1) Disampaikan pada Seminar Bioteknologi Perkebunan dan Lokakarya Biopolimer untuk Industri PAU Bioteknologi IPB, Bogor 10-11 Desember 1991.

2) Puslitbang Bioteknologi - LIPI, Bogor.

3) Fakultas Biologi, Universitas Nasional, Jakarta.

## PENDAHULUAN

Sebagai negara tropis, Indonesia kaya akan sumber daya alam karbohidrat. Sumber ini amat berlimpah jumlahnya termasuk ubikayu, sagu, dan pisang. Indonesia adalah negara penghasil sagu terbesar di dunia. Sementara itu untuk ubikayu meskipun bukan tanaman asli Indonesia dan tidak diusahakan secara profesional dengan produktivitas rendah (di bawah 10 ton/ha), negeri kita mampu menempatkan dirinya sebagai penghasil ubikayu terbesar nomer tiga di dunia setelah Brazil dan Thailand. Sekalipun pisang tidak ditanam secara intensif, Indonesia menempati urutan ke empat sebagai negara produsen pisang dunia.

Ketiga komoditi di atas khususnya ubikayu mempunyai banyak keunggulan bila dibandingkan dengan komoditi yang lainnya. Diantara keunggulannya adalah bahwa efisiensi fotosintesisnya tinggi, mudah tumbuh pada lahan yang kurang subur, resisten terhadap kekeringan dan pemanenan dapat diatur sesuai dengan kebutuhan (Sukara, 1987 dan MacLennan, 1975).

Berlimpahnya sumberdaya karbohidrat ini terutama ubikayu tidak lepas dari permasalahan. Salah satu permasalahan yang sering dijumpai adalah berfluktuasinya harga. Pada saat panen raya harga seringkali jatuh dan mengakibatkan para petani enggan untuk menjualnya dan membiarkan ubikayu membusuk di lapangan. Sementara itu industri-industri yang memanfaatkan ubikayu sebagai bahan bakunya sangat terbatas dan pada umumnya bersifat tradisional (Winarso, 1986).

Sekalipun tidak direkomendasikan oleh FAO karena kandungan proteinnya amat rendah (Dixon, 1979), ubikayu di berbagai tempat di Indonesia masih banyak dipergunakan sebagai makanan pokok. Hal serupa juga masih terjadi di Afrika dan Amerika Selatan (Stanton dan Walbridge, 1969).

Apabila hal ini dibiarkan berlarut, pertumbuhan fisik, pertumbuhan otak dan perkembangan mental dapat terhambat (Sukara, 1987). Untuk mengurangi krisis protein di daerah dimana makanan pokoknya ubikayu perlu dicarikan alternatif. Jasad renik dengan daya rombak dan sintesisnya yang tinggi yang ternyata juga mampu mengubah karbohidrat (pati) menjadi protein (Brook, 1969; Sukara, 1987) merupakan suatu alternatif yang mempunyai potensi tinggi untuk dikembangkan.

Menurut Brook and Stanton (1969); Santos and Gomez (1983) dan Sukara and Doelle (1989) ubikayu ternyata dapat dipakai sebagai bahan baku untuk memproduksi protein sel tunggal.

Suatu hal yang menggembirakan adalah bahwa dari hasil pengujian intensif ternyata kapang tempe (*Rhizopus*) mampu mengubah pati menjadi protein (Sukara, 1987). Kapang ini bila dibandingkan dengan khamir dan bakteri memiliki beberapa keuntungan. Seperti mikrofungi yang lainnya, kapang ini asam nukleatnya lebih rendah, struktur filamennya memudahkan pemanenan (cukup dengan filtrasi biasa) dan memungkinkan digunakan dalam pembuatan bahan pangan tanpa harus diolah lagi dan mempunyai peluang untuk siap diterima sebagai makanan tidak hanya di Indonesia tetapi juga diberbagai bagian dunia (Spencer, 1971). Keuntungan lainnya adalah, bahwa kapang ini dapat tumbuh dalam temperatur tinggi dan pH rendah sehingga prosesnya dapat dilakukan dalam keadaan tidak sepenuhnya aseptis (Stanton dan Walbridge, 1969 dan Sukara, 1987).

Atas dasar pemikiran tersebut di atas, kapang tempe *Rhizopus* sp. UQM 186F diuji coba kemampuannya merombak dua varietas ubikayu menjadi protein. Dengan menggunakan varietas ubikayu yang tepat dan penambahan nutrisi serta lama inkubasi yang tepat diharapkan dapat meningkatkan nilai efisiensi.

## BAHAN DAN CARA KERJA

**Substrat**

Disamping pati ubikayu, dekstrin, maltosa dan glukosa, dua varietas ubikayu masing-masing Adira I dan Adira IV dalam bentuk segar dipakai sebagai sumber karbon dan energi pada proses pembuatan protein sel tunggal. Bahan yang disebut terakhir ini diperoleh dari Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Muara, Bogor dengan umur 8 bulan. Untuk keperluan penelitian sebanyak 1 kg ubikayu sebagian dikupas dan sebagian lagi tidak. Kedua-duanya dicuci. Sesaat sebelum dipakai substrat dalam penelitian, ubikayu ini diparut.

**Penyiapan medium**

Bahan ( $\text{KH}_2\text{P}_4$  sebanyak 0.025 g, Urea 0.17 g dan  $\text{ZNSO}_4$  0.0005 g) dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer ukuran 250 ml. Timbang sebanyak 1 g substrat (pati, dekstrin, maltosa, atau glukosa) atau 7.5 g parutan ubikayu dan dicampur dengan bahan-bahan di atas. Ke dalamnya kemudian ditambahkan aquadest 40 ml, lalu dikocok sehingga merata. Derajat keasamannya diukur dengan pH meter "Horiba" dan ditetapkan samapi 4.5 dengan penambahan HCl 1N sebanyak yang dibutuhkan. Tutup dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian digelatinisasi dalam air mendidih untuk kemudian disterilisasi pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit dilakukan pada autoclave "Asepta" tipe SD. 50 1.

**Mikroba**

Dalam penelitian ini digunakan kapang *Rhizopus sp.* UQM 186F yang asalnya diisolasi dari tempe. Kapang ini diperoleh dari Seksi Koleksi Kultur/Biakan BalitBang Re-kayasa Mikroba dan Genetika - Puslitbang Bioteknologi - LIPI, Bogor.

### Penyiapan spora

Suspensi spora dibuat dengan menambahkan aquadest steril 5ml ke dalam biakan agar miring *Rhizopus sp.* UQM 186F dalam PDA umur 48 jam. Sebanyak 1ml suspensi spora dipakai untuk menginokulasi medium sporulasi yang dibuat seperti apa yang dikemukakan oleh SUKARA (1987).

### Kultivasi dan pemanenan biomasa

Medium setelah diinokulasi dengan suspensi spora kemudian diinkubasi pada shaker inkubator dengan kecepatan putaran 200 rpm pada suhu kamar.

Biomasa yang diperoleh dipisahkan dengan penyaringan sederhana melalui plankton net ukuran 400 dengan bantuan tekanan negatif. Biomasa tersebut dicuci berulang-ulang dengan aquadest kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 12 jam. Biomasa kering kemudian dipergunakan untuk menentukan jumlah biomasa yang dibentuk dan analisis protein. Sementara itu fitrat yang diperoleh diukur pH akhirnya dan dilakukan uji yodida untuk melihat sisa pati.

Analisis protein dilakukan dengan metoda buret seperti dipertelakan oleh Sukara (1987).

### Rancangan penelitian

Pada tahap awal untuk mengetahui pengaruh varietas ubikayu, proses pengupasan dan lama masa inkubasi penelitian dirancang dengan rancangan acak lengkap. Rancangan ini dipergunakan pula untuk mengetahui pengaruh 5 macam substrat (ubikayu segar, pati ubikayu, dekstrin, maltosa dan glukosa). Untuk mengoptimasi beberapa komponen media (nutrisi) percobaan kemudian dilakukan dengan menggunakan rancangan faktorial tidak lengkap dengan 5 faktor yang masing-masing terdiri atas 3 taraf dengan seluruh perlakuan sebanyak 17 kali yang dilanjutkan dengan metoda steepest ascent seperti diuraikan oleh Kupletskaya dkk. (1969).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tahap awal dari penelitian ini diamati pengaruh berbagai sumber karbon dan energi terhadap pertumbuhan dan biokonversinya oleh kapang *Rhizopus* sp. UQM 186F. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1. Biomasa tertinggi yang dicapai adalah pada masa inkubasi 72 jam yaitu 18.75 g/L atau sama dengan 5.28 g protein per L. Nilai ini dicapai ketika Adira I tanpa pengupasan dipakai. Dari hasil analisis sidik ragam, diketahui, bahwa sumber karbon dan energi mempunyai nilai F hitung yang lebih besar dari pada nilai F table 1%. Sehingga dapat dikatakan, bahwa sumber karbon dan energi ini mempengaruhi produksi biomasa dan protein secara sangat bermakna.

Tabel 1. Pengaruh berbagai medium untuk memproduksi biomassa protein dari *Rhizopus* sp. UQM 186F secara fermentasi terendam

	Medium				
	Ubikayu segar	Pati ubikayu	Dextrin	Maltosa	Glukosa
Biomassa (g/L)	18.75	9.8	7.5	2.2	1.3
Biomassa (g/100 g kering substrat awal)	34.08	24.5	18.67	5.38	3.17
Kandungan protein biomasa (% , b/b)	28.01	14.55	25.45	26.98	33.87
Protein (g/l)	5.28	1.44	1.86	0.57	0.37
Protein (g/100 g kering substrat awal)	9.59	3.59	4.65	1.42	0.93

\* rata-rata dari 3 ulangan.

Untuk melihat lebih jauh tentang penggunaan ubikayu segar untuk produksi protein oleh *Rhizopus* dua varietas ubikayu masing-masing Adira I dan IV diuji coba pada penelitian lanjutan ini. Pengaruh pengupasan juga diamati. Hasilnya dipertelakan pada Tabel 2. Data ini menunjukkan, bahwa konversi ubikayu oleh kapa ini disamping dipengaruhi oleh varietas ubikayu, juga dipengaruhi oleh proses pengupasan. Nilai konversi ubikayu menjadi biomasa tertinggi adalah 19.76 g/L. Nilai ini dicapai oleh Adira I tanpa pengupasan dengan waktu inkubasi 72 jam. Hasil analisis sidik ragam, diketahui bahwa faktor varietas ubikayu mempunyai nilai F hitung lebih besar daripada F tabel 5% tapi lebih kecil dari F tabel 1%. Hal ini menunjukkan, bahwa varietas ubikayu mempengaruhi produksi biomasa. Sementara itu faktor pengupasan, dengan analisis yang sama diketahui tidak berpengaruh nyata terhadap produksi biomasa. Sebaliknya faktor waktu inkubasi mempengaruhi produksi biomasa secara sangat nyata. Hasil serupa juga dapat dilihat pada produksi protein.

Untuk selanjutnya penelitian hanya dilakukan terhadap ADIRA I tanpa pengupasan. Dalam kesempatan ini dicoba dilakukan optimasi konsentrasi nutrisi dalam medium terhadap peningkatan biomasa dan protein, metoda steepest ascent dengan faktorial tidak lengkap dipergunakan. Komponen penyusun medium (urea, potasium dihidrogen fosfat, zink sulfat, dan magnesium sulfat) serta waktu inkubasi divariasikan. Hasil dari percobaan ini dipertelakan pada Tabel 4 dan dihitung dengan menggunakan koefisien regresi. Metoda steepest ascent dilakukan terhadap faktor yang mempengaruhi proses.

Pada Tabel 3 terlihat bahwa hasil untuk protein tertinggi sekitar 5.81 g/L dengan komposisi medium terdiri dari urea (3.5 g/L), zinkum sulfat (0.01 g/L), magnesium sulfat (0.5 g/L) serta waktu inkubasi 72 jam. Bila dili-

hat hasil analisis regresinya ternyata koefisien regresi untuk urea adalah + 0.233;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0.382,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 0.052;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 0.468; dan waktu inkubasi + 0.208.

Tabel 2. Pengaruh pengupasan terhadap proses biokonversi dua varietas ubikayu (Adira I dan Adira IV) oleh kapang *Rhizopus* sp. UQM 186F<sup>\*</sup>)

	Waktu inkubasi (jam)	Adira I		Adira IV	
		A	B	A	B
Biomasa (g/L)	24	11.23	15.49	14.42	11.69
	48	17.48	17.27	17.43	16.27
	72	18.60	19.76	13.68	16.33
Biomasa (g/100 g kering substrat awal)	24	29.18	31.56	21.97	18.13
	48	26.91	26.43	28.64	26.78
	72	48.30	41.31	32.97	25.27
Kandungan protein biomasa (% b/b)	24	14.05	15.52	14.42	16.20
	48	21.93	16.55	18.72	16.00
	72	22.18	17.76	23.42	17.08
Protein (g/L)	24	1.59	2.39	1.31	1.96
	48	3.89	1.90	3.27	2.61
	72	4.46	3.53	3.15	3.39
Protein (g/100 g kering berat substrat awal)	24	4.14	4.88	3.17	3.06
	48	5.86	4.28	5.38	4.29
	72	11.54	7.41	7.62	5.25

\* ) rata-rata dari 3 ulangan

A = tanpa pengupasan

B = dengan pengupasan



Tabel 3. Rancangan faktorial tidak lengkap untuk mengetahui pengaruh komponen media pada proses biokonversi ubikayu Adira I oleh *Rhizopus* sp. UQM 186F

X1	X2	X3	X4	X5	Biomasa (g/l)	Protein (g/l)
1	0	0	0	24	20.95	2.99
3.5	1	0	0	24	21.50	1.47
3.5	0	0.01	0.05	72	24.35	5.81
1	1	0.01	0.05	72	20.85	2.67
3.5	0	0.01	0	24	14.85	2.74
1	1	0.01	0	24	22.40	4.03
1	0	0	0.5	72	20.85	3.81
3.5	1	0	0.5	72	15.40	4.35
3.5	0	0	0	72	17.30	3.21
1	1	0	0	72	20.25	1.81
1	0	0.01	0.05	24	20.55	3.39
3.5	1	0.01	0.05	24	14.30	2.21
3.5	0	0	0.05	24	18.05	4.23
1	1	0	0.05	24	21.15	2.66
1	0	0.01	0	72	19.85	2.26
3.5	0.5	0.01	0	72	17.40	3.23
2.25	0.5	0.005	0.25	48	19.75	4.19

Keterangan: X1 = urea (g/L); X2 =  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (g/L);  
 X3 =  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (g/l); X4 =  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (g/L)  
 dan X5 = waktu inkubasi (jam)

Berdasarkan hasil penghitungan ini,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  karena sifatnya menghambat, tidak dipakai. Sementara itu unsur yang lain yaitu urea,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan waktu inkubasi diuji lebih lanjut dengan menggunakan metoda "steepest ascent" yang rancangan dan hasil pengamatannya dipertelakan pada Tabel 4.

Dengan menggunakan metoda ini jumlah protein yang diproduksi dapat ditingkatkan menjadi 7.08 g/L. Nilai ini dicapai dengan menggunakan kadar urea sebanyak 4.0 g/L,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.015 g/l),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.55 g/L) dengan waktu inkubasi selama 74 jam.

Tabel 4. "Steepest Ascent" Rancangan faktorial tidak lengkap untuk mengetahui pengaruh komponen media pada proses biokonversi ubikayu Adira I oleh *Rhizopus* sp. UQM 186F.

X1	X2	X3	X4	Biomasa (g/l)	Protein (g/l)
3.5	0.010	0.50	72	17.50	6.96
4.0	0.015	0.55	74	19.02	7.08
4.5	0.020	0.60	76	17.06	6.15
5.0	0.025	0.65	78	19.35	4.87
5.5	0.030	0.70	80	15.72	5.06
6.0	0.035	0.75	82	15.91	4.03

Keterangan: X1 = urea (g/L); X2 =  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  (g/l);  
X3 =  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (g/L) dan X5 = waktu inkubasi (jam)

#### DAFTAR PUSTAKA

- Barret, D.M. dan Damardjati, D.S. 1987. Peningkatan Mutu Hasil Ubikayu di Indonesia, dalam Budidaya Ubi Kayu. Wargiono, J. dan Barret, D.M. (Eds), Yayasan Obor Indonesia dan PT Gramedia, Jakarta. 171 hal.
- Brook, E.J., Stanton, W.R. and Wallbridge, A. 1969. Fermentation methods for protein enrichment of cassava. *Biotechnol and Bioengineering.*, XI: 1271-1284.
- Crabbe, D and Lawson, S. 1981. *The World Food, Atlas and Statistical Source Book*, Kogan Page Ltd., London, 1284.
- Dixon, J. 1979. Production and Consumption of cassava in Indonesia. *Bull. Ind. Economic. Studies.*, XV: 83.
- Kartasapoetra, A.G. 1988. *Teknologi Budidaya Tanaman Pangan di Daerah Tropik*, Bina Aksara, Jakarta, 20 hal.
- MacLennan, D.G. 1975. Single cell protein from starch. a new concept in protein production. *Food. Technology in Australia*, 27: 141.

- Odigboh, E.U. 1983. Cassava Production Processing and Utilization. Dalam Hand Book of Tropical Foods. Harvey, T. and Chan, J.R. (Eds), Marcel Dekker, Inc. New York and Base. p. 145.
- Santos, J. and Gomez, G. 1983. Production of fungal protein from rasped fresh cassava roots using 200 and 3000 liter fermentor, Animal Feed Science and Technology, 8:313.
- Soenarjo, R. and Nugroho, J.H. 1986. Improving the Productivity of Cassava in Indonesia, in Cassava in Asia, its Potential and Research Development Need, Proceedings of a Regional Workshop held in Bangkok, Thailand, 5-8 June, 1984, Centro International de Agricultura Tropica (CIAT), p. 229.
- Sukara, E. 1987. Production of Single Cell Protein from Cassava by Microfungi, a Thesis Doctor of Philosophy, Department of Microbiology, University Queensland.
- Suriawiria, V. 1986. Pengantar Mikrobiologi Umum, Angkasa Bandung, 33 hal.
- Winarno, F.G. 1986. Penanganan singkong dan ubijalar, Kumpulan pikiran dan gagasan tertulis 1979-1981, Institut Pertanian Bogor, 3 hal.