



Prosiding Seminar Nasional
Pengelolaan Sumberdaya Alam
dan Lingkungan 2015

Kampus Program Pascasarjana Universitas Diponegoro
Semarang, 20 Agustus 2015



Produksi Protein Sel Tunggal *Saccharomyces cerevisiae* pada Limbah *Non Dairy Creamer*
Berdasarkan Berat Kering Sel dan Waktu Fermentasi

Endah Rita Sulistyia Dewi a,* , Anang M. Legowo^b, Munifatul Izzati^c

^{a,b,c} Program Doktor Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro

*Email : endahrita@yahoo.co.id

ABSTRACT

This research was conducted to study the effect of cell dry weight and fermentation time on the production of single cell protein *Saccharomyces cerevisiae*. Industrial wastewater non dairy creamer has potential as a medium for the growth of microorganisms. The study was conducted several phases: raw material preparation, seedling stage, and inoculation stage. This study uses a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 3 repetitions. This treatment includes, treatment P1 (non dairy creamer media concentration 25%), P2 (non dairy creamer media concentration 50%), P3 (non dairy creamer media concentration 75%) and P4 (non dairy creamer media concentration 100%), which inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* a number of 10^6 cells / ml. Results of analysis of variance showed that the cell dry weight of F arithmetic < F table which was $0.23 < 3.49$ then the H1 is rejected, so that it can be concluded that the concentration of non-dairy creamer media does not give effect to the dry weight of the cells of *Saccharomyces cerevisiae*. Results of the analysis of protein content showed F arithmetic < F table $0.18 < 3.49$, it can be concluded that the use of non dairy creamer media does not give effect to the protein content of the product

Kata Kunci : *Saccharomyces cerevisiae*, protein product, non dairy creamer

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki potensi pengembangan kelapa yang cukup besar. Salah satu pemanfaatan kelapa adalah sebagai bahan baku pada pembuatan produk *non dairy creamer*. Proses pembuatan produk tersebut akan menghasilkan limbah yang berpotensi sebagai sumber pencemaran lingkungan.

Menurut UU RI No. 32 Tahun 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup, yang disebut pencemaran adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan atau komponen lain ke dalam lingkungan hidup oleh kegiatan manusia sehingga melampaui baku mutu lingkungan. Pencemaran lingkungan menjadi permasalahan global yang menuntut pengolahan yang efektif dan efisien dalam waktu yang relatif cepat. Pengelolaan pencemaran lingkungan bertujuan agar suatu kegiatan dapat menghasilkan polutan sesedikit mungkin atau menjadikan polutan tersebut tidak berbahaya, sehingga tidak menimbulkan masalah lingkungan dan kesehatan.

Non dairy creamer adalah produk pengganti susu atau krim yang merupakan produk emulsi lemak dalam air, dibuat dari minyak nabati seperti *coconut oil* yang dihidrogenasi dengan penambahan bahan tambahan pangan yang diizinkan yaitu *glucose syrup*, *sodium caseinate*, *emulsifier* dan *stabilisers*, garam serta air. Teknologi utama yang digunakan dalam produk tersebut adalah teknologi *spray-drying*, yaitu teknologi mutakhir yang diaplikasikan untuk merubah fase *liquid ingredient* menjadi *powder creamer*. Selanjutnya dalam proses pembuatan *non dairy creamer*, dihasilkan pula limbah yang dapat berupa limbah padat maupun cair (Badan SNI, 2012).

Limbah cair *non dairy creamer* memiliki potensi sebagai media pertumbuhan mikroorganisme. Kandungan karbohidrat, protein dan lemak dalam limbah cair diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme seperti bakteri, khamir maupun fungi. Penelitian pada berbagai limbah sebagai media tumbuh mikroorganisme telah dilakukan untuk produksi protein sel tunggal, dengan harapan mendapatkan media pertumbuhan yang berbiaya murah, dan dalam hal tersebut belum pada pemanfaatan untuk limbah *non dairy creamer*.

Menurut Mondal (2012), protein sel tunggal berasal dari pertumbuhan mikroorganisme secara tunggal maupun yang berbentuk filament. Memiliki kandungan protein yang tinggi (60-82% dari berat kering sel), serta kandungan lemak, karbohidrat, asam nukleat, vitamin dan mineral serta kaya akan asam amino esensial seperti lisin, methionin yang sedikit terdapat pada hewan dan tumbuhan.

Mikroorganisme yang dipilih dalam penelitian ini adalah *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* termasuk khamir kelas Ascomycetes yang banyak mengandung protein, karbohidrat dan lemak sehingga dapat dikonsumsi manusia dan hewan guna melengkapi kebutuhan nutriennya. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki sifat toleran terhadap lingkungan yang lebih asam dengan pH antara 3,5 sampai 5,5, mempunyai suhu pertumbuhan antara 25°C - 30°C (Prakash *et al.*, 2013; Jaganmohan *et al.*, 2013). Kelebihan lain dari mikroorganisme tersebut adalah mempunyai diameter sel sekitar 0,0005 cm, dengan diameter sebesar ini *Saccharomyces cerevisiae* mudah dipisahkan dengan cara sentrifugal, tanpa memerlukan tahap penggumpalan (Prawignya, 2011).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penting dilakukan penelitian tentang produksi protein sel tunggal *Saccharomyces cerevisiae* pada limbah *non dairy creamer* berdasarkan berat kering sel dan waktu fermentasi.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Variabel Penelitian

1. Variabel Variabel bebas/independent
2. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi limbah *cair non dairy creamer* yang terdiri dari larutan limbah *cair non dairy creamer* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% yang digunakan sebagai media pertumbuhan.
3. Variabel tergantung/dependent
4. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah berat kering sel, waktu fermentasi dan protein produk

2.2. Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Penyiapan inokulum sesuai penelitian Mondal, *et al.*, (2012) yang menyatakan *Saccharomyces cerevisiae* dikulturkan dalam medium YPDA selama 4 hari dan diinkubasi selama 28° C, selanjutnya dicuci dalam aquades destilasi steril 25 ml dan dihasilkan konsentrasi akhir sebanyak 10⁶ sel/ml untuk digunakan. Selanjutnya *Saccharomyces cerevisiae* diinokulasikan dalam medium sesuai konsentrasi, masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Adapun perlakuan yang dipakai adalah :

P1:limbah *cair non dairy creamer* 25% + suspensi *S. cerevisiae* (10⁶ sel/ml)

P2:limbah *cair non dairy creamer* 50% + suspensi *S. cerevisiae* (10⁶sel/ml)

P3:limbah *cair non dairy creamer* 75% + suspensi *S. cerevisiae* (10⁶ sel/ml)

P4:limbah *cair non dairy creamer* 100% + suspensi *S. cerevisiae* (10⁶ sel/ml)

Pengumpulan data penelitian dilakukan pada jam ke-24, ke-48, ke-72, ke-96 meliputi berat kering sel, protein produk, pengukuran pH dan suhu, masing-masing diulang 3 kali.

2.3. Cara Kerja

1. **Mempersiapkan alat dan bahan** yaitu biakan murni *Saccharomyces cerevisiae*, limbah *cair non dairy creamer*, ekstrak khamir, pepton, dekstrosa, akuades, NaOH 0,5N, H₂O, Na₂CO₃, CuSO₄, K-Na-Tartrat, Folin-ciocalteau dan *Bovine Serum Albumine* (BSA).
2. **Pembuatan medium YEPD** Medium YEPD dibuat dari campuran ekstrak khamir, pepton, dekstrosa, dan akuades. Semua bahan dimasukkan dalam *beaker glass* dan diaduk hingga homogen. Campuran tersebut kemudian dimasukkan dalam erlemeyer sampai volume 150 mL. Botol selai ditutup dengan busa dan aluminium foil, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya medium didinginkan dan setelah dingin siap diinokulasi.
3. **Pembuatan medium limbah cair non dairy creamer.** Medium dibuat dari limbah *cair non dairy creamer* secara artifisial dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Selanjutnya bahan tersebut diaduk hingga homogen, disaring, dan dimasukkan ke dalam botol selai. Botol selai lalu ditutup dengan busa dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian medium didinginkan dan setelah dingin siap diinokulasi.
4. **Penumbuhan *S. cerevisiae* pada medium YEPD dan medium limbah cair non dairy creamer.** Penumbuhan *S. cerevisiae* pada medium YEPD dan limbah *cair non dairy creamer* berdasarkan metode dari Amaria, *et al.*, (2001). Pada medium YEPD dan medium limbah *cair non dairy creamer*, *S. cerevisiae* disuspensikan dalam akuades steril dengan kepadatan 10⁶ sel/mL. Masing-masing medium dalam botol jam diinokulasi dengan 1 mL suspensi tersebut. Selanjutnya, baik medium YEPD maupun medium limbah *cair non dairy creamer* diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 30°C selama 20 jam. Kemudian medium tersebut diukur pH dan dihitung populasi sel *Saccharomyces cerevisiae* setiap 24 jam selama 4 hari.
5. **Pengukuran pH medium.** Pengukuran pH medium YEPD dan limbah *cair non dairy creamer* dilakukan pada jam ke- 24, 48, 72, dan 96 jam dengan menggunakan pH meter.
6. **Penghitungan jumlah sel *S. cerevisiae*.** Penghitungan jumlah sel/mL dilakukan setiap 24 jam berdasarkan metode dari Hadioetomo (1993) dalam (Purwitasari,*et al.*,2004) dengan alat hemositometer

pada mikroskop cahaya atau melalui analisa kerapatan optik/OD (Optical Density) menggunakan fotometer pada panjang gelombang 550 nm.

7. **Pembuatan serbuk sel-sel *S. cerevisiae*.** Pembuatan serbuk sel-sel *S. cerevisiae* berdasarkan metode dari Amaria *et al.*, (2001). Sel-sel *S. cerevisiae* dipanen saat pertumbuhan optimal dengan melakukan sentrifugasi 3000 rpm sebanyak 2 kali masing-masing selama 10 menit. Endapan dicuci dengan cara diberi akuades dan disaring dengan kertas saring Whatman no.40. Selanjutnya sel dikeringkan pada suhu 50-60°C selama 2 hari. Setelah kering, dilakukan penggerusan sel, kemudian serbuk yang dihasilkan ditimbang berat kering selnya dan dianalisis kandungan proteinnya dengan metoda Micro Kjeldahl.

2.4. Analisis Data

Data yang diamati meliputi berat kering sel, protein produk khamir *Saccharomyces cerevisiae* pada media kultur dan media pemeliharaan lingkungan dilakukan dengan analisis sidik ragam (ANAVA), setelah itu dilakukan uji normalitas sebaran dan homogenitas ragam error. Jika diperoleh perbedaan yang signifikan diantara setiap perlakuan maka dilanjutkan dengan uji wilayah ganda dari Duncan/DMRT (*Duncan's new Multiple Range Test*) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dan perlakuan mana yang memberikan pengaruh terbaik (Gomez, 1995)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil perhitungan berat kering sel terhadap konsentrasi substrat ditampilkan pada Tabel 1. Yang selanjutnya dilakukan uji Analisis of Varians (Tabel 2) yang menyatakan tidak ada perbedaan yang signifikan pada taraf 5%, hal ini berarti tidak terdapat pengaruh medium terhadap berat kering sel dan kadar protein produk, namun demikian jika dilihat dari Grafik 1, maka pada perlakuan konsentrasi substrat 50% memberikan hasil berat kering sel tertinggi pada waktu fermentasi 72 jam (H3), dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi substrat yang lain, dan berat kering sel menurun pada waktu fermentasi berikutnya, yaitu 96 jam (H4). Nutrien yang terkandung dalam medium tersebut pada waktu pembiakan 72 jam tersedia dalam jumlah yang cukup untuk dimanfaatkan *Saccharomyces cerevisiae* bagi pertumbuhannya. *Saccharomyces cerevisiae* akan memanfaatkan protein, karbon, dan mineral dalam medium sebagai substrat metabolisme untuk sintesis komponen sel. Terjadinya sintesis komponen sel tersebut ditandai dengan meningkatnya berat kering sel. Menurunnya berat kering sel pada waktu fermentasi 96 jam (H4), dapat diakibatkan semakin berkurangnya kandungan nutrien dalam media.

Sumber karbon yang semakin tidak mencukupi mengakibatkan terjadinya peristiwa pembongkaran protein dalam sel untuk aktivitas metabolismenya. Proses metabolisme tersebut akan menghasilkan metabolit-metabolit hasil degradasi protein seperti urea dan ion-ion amonium yang dapat menyebabkan kenaikan pH (Hochfeld, W.L., 2006).

Tabel 1. Berat Kering Sel *Saccharomyces cerevisiae* (mg/ml)

Perlakuan	Ulangan				Jumlah Perlakuan	Rataan Perlakuan
	1	2	3	4		
P1	1.87	0.81	1.76	1.49	5.93	1.48
P2	0.38	0.85	2.78	0.45	4.46	1.12
P3	1.15	1.76	0.45	0.94	4.3	1.08
P4	0.41	1.75	0.89	1.97	5.02	1.26
Jumlah Umum (G)					19.71	
Rataan Umum						1.23

Keterangan:

P1 : konsentrasi substrat 25%

P2 : konsentrasi substrat 50%

P3 : konsentrasi substrat 75%

P4 : konsentrasi substrat 100%

Tabel 2. Daftar Analisis Of Varians Berat Kering Sel *Saccharomyces cerevisiae*

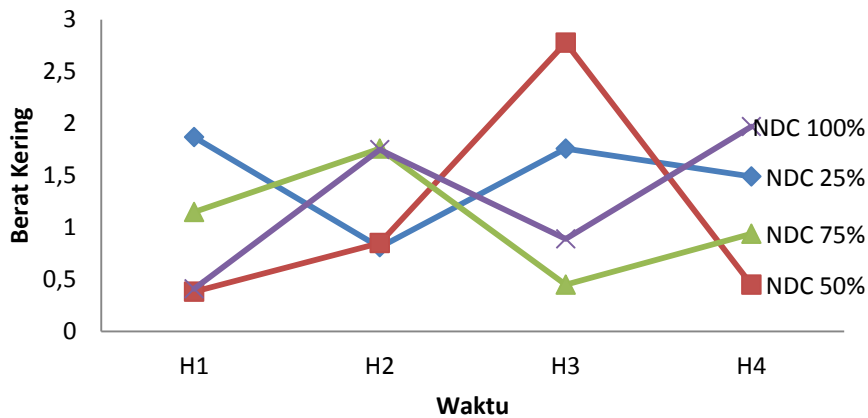
Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (Jk)	Kuadrat Tengah (Kt)	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	0.40	0.13	0.23ts	3.49	5.95
Galat	12	6.99	0.58			
Umum	15	7.39				

Keterangan:

F hitung < F tabel, maka H₁ ditolak

ts : tidak signifikan/tidak beda nyata ($\alpha = 5\%$)

kk : 61,92%



Grafik 1. Pengaruh Konsentrasi Media terhadap Berat Kering Sel *Saccharomyces cerevisiae*

Menurut Nasser, *et al.*, (2011), membran sel *Saccharomyces cerevisiae* terdiri dari lipoprotein, yang mengandung enzim-enzim yang diperlukan untuk sintesis sebagian komponen dinding sel. Enzim yang terdapat pada sel *Saccharomyces cerevisiae* antara lain adalah protease, karboksipeptidase, aminopeptidase, dan intervas. Dengan adanya enzim tersebut maka *Saccharomyces cerevisiae* dapat menggunakan medium limbah sebagai medium pertumbuhannya.

Kadar protein total, jika dilihat dari konsentrasi substrat, maka hasil tertinggi terdapat pada P4 (konsentrasi 100%), hal ini dapat dimungkinkan karena kandungan nutrisi di konsentrasi 100%, masih relatif tercukupi untuk pertumbuhan, sehingga berdampak pada hasil protein produk. Dhanasekaran, *et al.*, (2011), menyatakan bahwa nutrisi yang mengandung gula akan memberi energi bagi proses metabolisme *Saccharomyces cerevisiae*, sementara di dalam pembuatan produk non dairy creamer terdapat kandungan gula.

Non dairy creamer adalah produk pengganti susu atau krim yang merupakan produk emulsi lemak dalam air, dibuat dari minyak nabati seperti *coconut oil* yang dihidrogenasi dengan penambahan bahan tambahan pangan yang diizinkan yaitu *glucose syrup*, *sodium caseinate*, *emulsifier* dan *stabilisers*, garam serta air (Badan SNI, 2012).

Tabel 3. Data Kadar Protein Total *Saccharomyces cerevisiae* (mg/ml)

Perlakuan	Ulangan				Jumlah Perlakuan	Rataan Perlakuan
	1	2	3	4		
P1	7.44	5.20	1.31	1.75	15.70	3.93
P2	8.26	2.63	1.75	2.19	14.83	3.71
P3	6.13	0.87	2.19	2.63	11.82	2.96
P4	4.77	7.00	1.75	3.50	17.02	4.26
Jumlah Umum (G)					59.37	
Rataan Umum						3.71

Keterangan:

P1 : konsentrasi substrat 25%

P2 : konsentrasi substrat 50%

P3 : konsentrasi substrat 75%

P4 : konsentrasi substrat 100%

Tabel 4. Daftar Analisis Of Varians Kadar Protein Total *Saccharomyces cerevisiae*

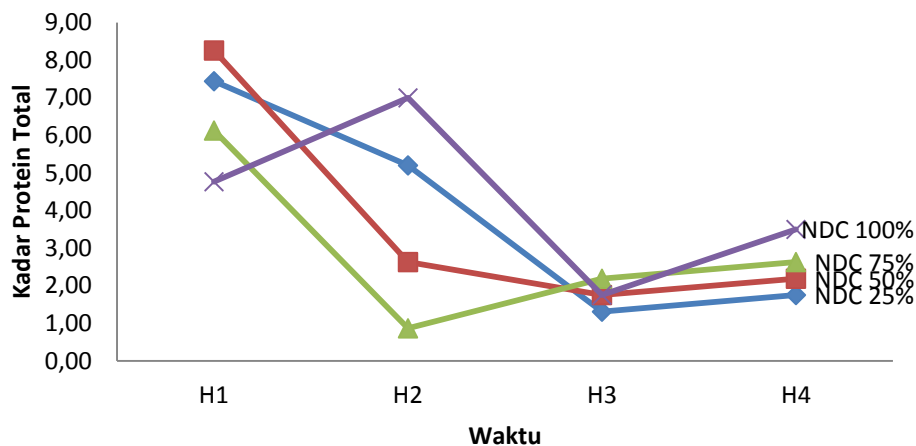
Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (Jk)	Kuadrat Tengah (Kt)	F hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	3.65	1.22	0.18ts	3.49	5.95
Galat	12	83.33	6.94			
Umum	15	86.98				

Keterangan:

F hitung < F tabel, maka H₁ ditolak

ts : tidak signifikan/tidak beda nyata ($\alpha = 5\%$)

kk : 71,02%



Grafik 4. Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Kadar Protein Total *Saccharomyces cerevisiae*

Menurut Okafor, N (2007), semakin baik nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, maka pertumbuhan sel semakin cepat yang akan meningkatkan kadar protein sel. Selain itu kadar protein sel dipengaruhi oleh waktu pembiakan. Waktu pembiakan yang terlalu singkat akan menghasilkan protein dalam jumlah rendah karena biokonversi komponen substrat belum optimal. Sedangkan waktu pembiakan yang terlalu lama akan menyebabkan terjadinya penurunan protein akibat autolisis untuk memenuhi kebutuhannya berkaitan dengan ketersediaan nutrisi dalam medium yang semakin tidak mencukupi.

Kadar protein produk terbaik dapat diperoleh pada waktu fermentasi jam ke 48 (H2), konsentrasi substrat limbah cair *non dairy creamer* konsentrasi 100%, mengingat pada jam ke 72 (H3) sudah mengalami penurunan, yang dapat dijelaskan bahwa pada saat itu pertumbuhan sel sudah mengalami fase stasioner bahkan fase kematian.

4. KESIMPULAN

Konsentrasi limbah cair *non dairy creamer* belum berpengaruh terhadap jumlah sel dan protein produk *Saccharomyces cerevisiae*, namun memiliki potensi untuk dapat digunakan sebagai media pertumbuhan, dengan rekomendasi penambahan nutrisi pada media sehingga akan diperoleh hasil yang lebih optimal

DAFTAR PUSTAKA

- Amaria, Agustini, R., Cahyaningrum, S.E., Santosa, S.J dan Narsito. 2007. Adsorpsi Seng (II) Menggunakan Biomassa *Saccharomyces cerevisiae* yang Diimobilisasi pada Silika Secara Sol Gel. *Akta Kimindo*.2(2): 63-74
- Adedayo, M. R.Ajiboye, E. A.Akintunde, J. K.Odaiba, A.2011. *Single Cell Protein: As Nutritional Enhancer*. *Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research*. 2 (5) : 396 – 409

- Anonim. 2012. Palm Based Non-dairy Creamer. In Palm Oil/ Palm Kernel Oil Application. <http://www.americanpalmoil.com/publications/creamer.pdf>
- Badan SNI, 2012. Krimer Nabati Bubuk. Penerbit Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Dhanasekaran, D., Lawanya, S., Saha, S., Thajuddin, N., and A. Panneerselvam. 2011. *Production of Single Cell Protein From Pineapple Waste Using Yeast*. Innovative Romanian Food Biotechnology. 8. 26-32. Issue of Marrch
- Gomez, A.A dan Gomez, K.A. 1995. *Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian*. Jakarta: UI-Press.
- Hochfeld, W.L., 2006. *Producing Biomolecular Substances with Fermenters, Bioreactors, and Biomolecular Synthesizers*. Taylor & Francis Group. London New York
- Jaganmohan, P. B Purushottam Daas and S.V. Prasad. 2013. *Production of Single Cell Protein (SCP) with Aspergillus terreus Using Solid state Fermentation*. European Journal of Biological Sciences 5(2): 38-43. ISSN 2079-2085
- Kam, S., Abedian Kenari, A.M. dan H. Younesi. 2012. *Production of Sinle Cell Protein in Stickwater by Lactobacillus acidophilus and Aspergillus niger*. Journal of Aquatic Food Product Technology. 21(5): 403-417
- Khan, M., Khan, S.S., Ahmed, Z., and A. Tanveer. 2010. *Production of Single Cell Protein from Saccharomyces cerevisiae by utilizing Fruit wastes*. Nanobiotechnica Universale. 1 (2). 127-132
- Mondal, A.K., Sengupta, S., Bhowal, J and D.K. Bhattacharya. 2012. *Utilization of Fruit Wastes in Producing Single Cell Protein*. International Journal of Science Environment and Technology. 1(5) : 430-438
- Nasserri, A.T, S. Rasoul Amini, M. H. Morowvat and Y. Ghasemi. 2011. *Single Cell Protein : Production and Process*. American Journal of Food Technology 6 (2) : 103 – 116
- Okafor, N. 2007. *Modern Industrial Microbiology and Biotechnology*. Science Publisher, Enfield, NH, USA. South Carolina
- Ofodile, L.N, Doherty F, Oyelola O.T., Oguntuyi, B.L. and Kolawole-Joseph, O.S. 2011. *Biodegradation of Orange and Pineapple Peels for Production of Single Cell Protein*. Journal of Environmental Issues. Jenvscs. 1(1): 31-36
- Purwitasari, E., Pangastuti, A., dan R. Setyaningsih. 2004. *Pengaruh Media Tumbuh terhadap Kadar Protein Saccharomyces cereviceae dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal*. Bioteknologi 1 (2); 37-42 ISSN: 0216-6887
- Prawignya, H. 2011. *Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan". Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. Yogyakarta. ISSN 1693- 4393
- Prakash, B. P. Porumal, P. Tamilmani and Lini.P. Mathew. 2013. *Economic Utilization of Horn Residues for Microbial Biomass & SCP Production by Solid State Fermentation*. Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research Issue. 3(1):104-110. ISSN 2231-2560
- Safitri, F., Yunianta, dan I. Purwantiningrum. 2013. *Pengaruh Penambahan Pati Termodifikasi pada Non Dairy Creamer Terhadap Stabilitas Emulsifikasi dan Efisiensi Sodium Caseinate*. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 1(1): 1-14.
- Undang-Undang Republik Indonesia No. 32 Tahun 2009. *Tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup*.
- Yousufi, M.K. 2012. *To Determine Protein Content of Single Cell Protein Produced By Using Various Combinations of Fruit Wastes and Two Standard Food Fungi*. International Journal of Advaced Biotechnology and Research..3(1): 533-536. ISSN 0976-2612 (b)
- Pencemaran Air*. Thesis MIL. Undip.