

AKUMULASI LEMAK PADA RHIZOPUS SP MELALUI PROSES FERMENTASI PADAT

Oleh : Komari; Rossi Rozanna dan Mien Karmini Mahmud

ABSTRAK

Proses bioteknologi dalam memproduksi asam lemak esensial menggunakan kapang telah berkembang, terutama menggunakan kultur cair. Dengan kultur cair, *Rhizopus sp* yang telah digunakan dalam proses fermentasi tempe, ternyata mampu memproduksi asam lemak esensial (Gamma linoleic acid). Dalam proses pembuatan tempe gembus menunjukkan adanya penurunan kandungan lemak dalam substratnya. Oleh karena itu, penelitian ini memformulasikan media ampas tahu dengan sumber nitrogen dan mineral sehingga diperoleh komposisi media yang dapat menghasilkan lemak melalui fermentasi padat. Variabel yang diteliti adalah jenis mikroorganisme *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus arrhizus*, rasio karbon terhadap nitrogen (C/N ratio) sebesar 2.4, 1.5, dan 1.1 dengan sumber zat gizi lain yang ditambahkan sama serta temperatur fermentasi 27° C, 37° C dan 47° C dan lama fermentasi selama 3 hari. Pengamatan menunjukkan bahwa pertumbuhan *Rhizopus sp* hanya terjadi pada fermentasi ampas tahu pada suhu 27° C dan 37° C saja. Analisis kandungan lemak dari hasil fermentasi ampas tahu tersebut menunjukkan bahwa kandungan lemak yang diperoleh berkisar antara 0.25g/100 g dan 1.79g/100 g. Semua substrat yang difermentasi dengan *Rhizopus arrhizus* tidak meningkatkan kandungan lemaknya. Akumulasi lemak terjadi pada fermentasi ampas dengan *Rhizopus oligosporus*, dengan rasio karbon/nitrogen 2.4 dan suhu fermentasi 37° C.

Pendahuluan

Salah satu aspek penting dalam pengembangan sumberdaya manusia adalah peningkatan kecerdasan dan daya tahan tubuh terhadap penyakit. Kualitas kecerdasan memerlukan asam lemak *omega-3*, karena asam lemak tersebut berperan penting pada perkembangan otak dan jaringan syaraf serta penglihatan pada janin dan pada masa anak-anak (1). Oleh karena itu anak-anak perlu diberikan bahan makanan sumber asam lemak *omega-3* dari makanannya yang sesuai dengan kebutuhannya. Selain itu daya tahan tubuh terhadap penyakit maupun pencegahan penyakit degeneratif yang di Indonesia prevalensinya makin meningkat sangat memerlukan adanya sumber asam lemak *omega-3* dalam makanan (2). Oleh karena itu, berbagai upaya telah dilakukan untuk memproduksi asam lemak *omega-3* menggunakan proses bioteknologi.

Akhir-akhir ini, kecenderungan untuk memproduksi sumber asam lemak *omega-3* menggunakan proses bioteknologi makin luas, diantaranya menggunakan mikroalga, kapang dan mikroorganisme lainnya (3,4). Produksi lemak esensial (Gamma Linoleic Acid) menggunakan kapang *Rhizopus sp* telah dilakukan menggunakan fermentasi cair (5). Namun demikian produksi menggunakan fermentasi padat belum pernah diteliti.

Keunggulan fermentasi padat antara lain kemungkinan kontaminasi sangat kecil dan reaktornya sederhana (6).

Ampas tahu merupakan limbah yang dapat mengganggu kualitas lingkungan hidup. Pencemaran ini dapat dihindari dengan cara memanfaatkan ampas tahu sebagai substrat fermentasi antara lain tempe gembus (7). Kemungkinan lain dari pemanfaatan ampas tahu sebagai substrat dalam proses bioteknologi untuk memproduksi lemak esensial masih kurang diperhatikan. Mengingat kemampuan *Rhizopus sp* dalam memproduksi asam lemak omega-3 dalam fermentasi cair, potensi *Rhizopus sp* dalam menghasilkan asam lemak omega-3 dalam fermentasi padat perlu diteliti. Dalam proses pembuatan tempe gembus terjadi penurunan kandungan lemaknya. Oleh karena itu, dalam penelitian ini terlebih dahulu diteliti pengaruh formulasi media dengan penambahan sumber nitrogen dan sumber zat gizi lainnya dalam meningkatkan akumulasi lemak pada fermentasi padat tersebut sebelum fermentasi tersebut dikembangkan untuk memproduksi asam lemak esensial. Selain formulasi media ampas tahu, fermentasi padat juga menggunakan dua jenis *Rhizopus sp* dan tiga tingkat suhu fermentasi.

Bahan dan Cara

Bahan

Ampas tahu diperoleh dari pengrajin tahu di daerah Gunung Batu, Bogor. Sedangkan *Rhizopus oligosporus* diperoleh dari koleksi kultur mikroorganisme, Laboratorium Mikrobiologi, Puslitbang Gizi, Bogor dan *Rhizopus arrhizus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Puslitbang Gizi, Bogor. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah reagent grade.

Fermentasi Padat untuk Memproduksi Lemak

Fermentasi substrat padat dari ampas tahu dengan *Rhizopus sp* untuk mencari kondisi optimum proses yang diinginkan dalam memproduksi lemak tertinggi menggunakan modus Batch. Ampas tahu yang diperoleh dari pabrik tahu dibungkus dengan kain bersih dan diperas dengan tangan untuk menghilangkan sebagian airnya. Kemudian kedalam 100 g ampas tahu tersebut ditambahkan zat-zat gizi lainnya, antara lain KH_2PO_4 (0.3g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.4g), CuSO_4 (0.4g), dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.01g) dan suplemen lainnya. Sedangkan urea yang ditambahkan ke dalam ampas tahu bervariasi sehingga mencapai rasio karbon/nitrogen sebesar 2.4, 1.5 dan 1.1. Media tersebut selanjutnya ditempatkan dalam petri-dish dan disterilkan pada suhu 125°C selama 20 menit. Media steril tersebut dibiarkan dingin dan akhirnya diinokulasikan dengan larutan *Rhizopus oligosporus* atau *Rhizopus arrhizus* dengan konsentrasi 1% (v/w). Media yang telah diinokulasi dengan jamur tersebut difermentasikan dalam lemari dengan pengontrolan temperatur selama 3 hari.

Analisis

Sampel ampas tahu sebelum difermentasi dan hasil fermentasi ampas tahu pada akhir penelitian diambil. Kadar air dan lemak dalam sampel tersebut ditentukan dengan metoda AOAC (8). Kandungan air ditentukan dengan metoda pengeringan dalam oven pada suhu 105° C sampai diperoleh berat konstan, sedangkan kandungan lemak ditentukan dengan metoda ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut diethyl ether. Setelah sampel tersebut didekstruksi dengan asam klorida untuk memecahkan matriks dari substrat tersebut.

Hasil dan Bahasan

Komposisi zat-zat gizi ampas tahu dan formulasi media untuk proses fermentasi dapat dilihat dalam Tabel 1. Ampas tahu mengandung air (82.0g/100g) yang cukup tinggi untuk pertumbuhan mikroorganisme sehingga tidak diperlukan lagi penambahan air untuk proses fermentasi tersebut. Air bebas yang terdapat dalam ampas tahu mudah dibuang dengan cara memeras ampas tahu dengan kain bersih. Selain itu, ampas tahu tersebut mengandung lemak 1.25g/100g dan protein 4.0g/100g. Dengan penambahan nutrisi lainnya (vitamin dan mineral) diharapkan dapat membantu dalam meningkatkan kandungan lemak dalam fermentasi ampas tahu tersebut (6) Penambahan urea dimaksudkan untuk memberikan sumber nitrogen yang diperlukan dalam memproduksi sel bagi mikroorganisme selama proses fermentasi.

Tabel 1. Formulasi media fermentasi dengan berbagai rasio karbon terhadap nitrogen (C/N ratio) untuk memproduksi lemak melalui fermentasi padat

Komponen Media Fermentasi	Rasio Karbon/Nitrogen		
	2.4	1.5	1.1
Ampas tahu, g	97.9	96.9	95.6
Urea, g	1.0	2.4	3.0
KH ₂ PO ₄ , g	0.3	0.3	0.3
MgSO ₄ .7H ₂ O, g	0.4	0.4	0.4
CuSO ₄	0.4	0.4	0.4
FeSO ₄ .7H ₂ O, g	0.01	0.01	0.01

Dari pengamatan selama fermentasi menunjukkan bahwa pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* maupun *Rhizopus arrhizus* pada substrat ampas tahu cukup baik pada temperatur 27° C dan 37° C sedangkan pada temperatur 47° C pertumbuhan mikroorganisme tersebut kurang baik, bahkan sampai akhir proses fermentasi (3 hari) substrat menjadi kering dan *Rhizopus sp* tersebut tidak menunjukkan adanya perubahan kecuali dalam substrat terlihat tumbuhnya *Aspergillus sp.* yang tahan panas. Oleh

karena itu hasil fermentasi ampas tahu pada temperatur 47° C tidak dianalisis kadar lemaknya.

Hasil penentuan kandungan lemak dalam fermentasi ampas tahu terlihat dalam Tabel 2. Pada produksi lemak menggunakan media ampas tahu yang telah diperkaya dengan sumber nitrogen menghasilkan lemak yang cukup rendah, bahkan sebagian besar fermentasi tersebut menyebabkan turunnya kandungan lemak dalam substrat. Ampas tahu yang digunakan dalam penelitian ini mengandung lemak 1.25g/100g, sedangkan semua hasil fermentasi mengandung lemak lebih kecil dari angka tersebut (Tabel 2), kecuali rasio karbon/nitrogen 2.4 dan suhu fermentasi 37° C, yakni sebesar 1.79g/100g.

Kadar lemak yang dihasilkan oleh *Rhizopus arrizus* dalam ampas tahu pada temperatur 27° C menunjukkan penurunan dari 1.25g/100g menjadi 0.73g/100g, 0.94g/100g dan 0.59g/100g pada rasio karbon/nitrogen masing-masing 2.4, 1.5 dan 1.1. Hal ini berarti penurunan kadar lemak antara 24.8-52.8%. Sedangkan pada temperatur 37° C, kadar lemaknya berturut-turut 0.34g/100g, 0.46g/100g dan 0.25g/100g. Terlihat bahwa penurunan pada rasio karbon/nitrogen 2.4, 1.5 dan 1.1 adalah berturut-turut 72.8, 63.2% dan 80.0%. Demikian pula penurunan kandungan lemak juga terjadi pada fermentasi ampas tahu dengan *Rhizopus oligosporus*, pada suhu 27oC menunjukkan penurunan pada rasio karbon/nitrogen 2.4, 1.5 dan 1.1 masing-masing 79.2%, 59.2% dan 44.8%, sedangkan pada temperatur 37° C penurunan sangat kecil yakni 24.8% pada rasio karbon/nitrogen 1.5 dan penurunan 30.4% pada rasio karbon/nitrogen 1.1. Pada rasio karbon/nitrogen 2.4, kadar lemak ampas tahu meningkat menjadi 1.79g/100g atau (+3.2%).

Tabel 2. Pengaruh jenis kapang, temperatur dan rasio karbon/nitrogen terhadap kadar lemak dalam fermentasi padat (g/100 g bahan asal)

Kapang	Temperatur °C	Lemak pada Substrat awal	Produksi lemak pada rasio karbon/nitrogen		
			2.4	1.5	1.1
Rhizopus arrhizus	27	1.25	0.73(-41.6)	0.94(-24.8)	0.59(-52.8)
	37	1.25	0.34(-72.8)	0.46(-63.2)	0.25(-80.0)
Rhizopus oligosporus	27	1.25	0.26(-79.2)	0.51(-59.2)	0.69(-44.8)
	37	1.25	1.79(+43.2)	0.94(-24.8)	0.87(-30.4)

Keterangan : Dalam kurung adalah persentase penurunan (-) atau peningkatan (+) kadar lemak

Penurunan kadar lemak dalam ampas tahu tersebut kemungkinan disebabkan adanya penggunaan lemak sebagai sumber energi untuk pertumbuhan kapang *Rhizopus sp* yang cukup tinggi sehingga menggunakan cadangan lemak yang ada dalam ampas

tahu. Selain itu kesulitan utama produksi lemak dengan fermentasi substrat padat adalah rendahnya transfer masa dan energi dari media atau lingkungan proses fermentasi ke sel-sel mikroorganisme. Dalam penelitian ini proses produksi dilakukan dengan menggunakan batch tanpa pengadukan (statik), sehingga mikroorganisme tidak seragam memperoleh zat gizi yang dibutuhkan dari media tersebut. Selain itu, tidak dilakukannya pengadukan menyebabkan rendahnya transfer energi, sehingga penyesuaian temperatur substrat untuk pertumbuhan mikroorganisme terhambat, terutama pada bagian dalam dari substrat ampas tahu (6). Namun demikian dari hasil tersebut masih dapat dicapai kondisi optimum untuk memproduksi lemak, yakni fermentasi ampas tahu dengan *Rhizopus oligosporus* pada temperatur 37° C dan rasio karbon/nitrogen 2.4, untuk lama fermentasi 3 hari. Dengan proses tersebut terjadi peningkatan lemak dari 1.25g/100g menjadi 1.79g/100g atau kalau dalam bentuk bahan kering kandungan lemak fermentasi ampas tahu kering adalah 9.9g/100g.

Dalam pemanfaatan lemak tersebut, produk tersebut masih perlu diteliti lebih lanjut antara lain : komposisi asam lemaknya sebagai pertimbangan keunggulan produk dan cara "down stream processing" yang efisien untuk mengisolasi lemak dan memanfaatkannya sebagai suplemen dalam berbagai jenis makanan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan H. Yeyeh Adawiyah dalam melakukan proses fermentasi dan Prahadati dalam menganalisis lemak dalam substrat.

Rujukan

1. Connor, W.E.; M.Neuringer and S.Reisbick. Essential fatty acids. The importance of n-3 fatty acids in the retina and brain. *Nutr.Rev.* 1992,50(4):21-29
2. Devron, C.A. Marine oils and their effects. *Nutr.Rev.* 1992,50(4):38-45.
3. Chen, F. The fatty acid composition of *Chlorella sorokiniana* in heterotrophic growth. M.Eng.Sci. Thesis. Univ.of Quensland, Australia, 1989.
4. Yamada, H; S. Shimizu; Y. Shinmen; H. Kawashima and K. Akimoto. Biotechnological processes for production of poly-unsaturated fatty acids. *J. Disp. Sci. Tech.* 1989,10(4-5) 561-579
5. Kristofikova, L.M. Rosenberg, A. Vlnova, J. Sajbidor and M.Certik. 1991. Selection of *Rhizopus* strain for L(+)-Lactic acid and γ -linolenic acid production. *Folia Microbial* 1991,36(5):451-455.
6. Komari. Solid substrate fermentation. Paper for microbial technology subjects. Dept. Chem.Eng.Univ.Quensland, Australia, 1989.
7. Gandjar, I. dan D.S. Slamet. Tempe gembus hasil fermentasi ampas tahu. *Penelit.Gizi Makan* 1972,2:70-79.
8. AOAC. Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists. 12 th ed. Washington DC, 1975.