

EKSPLORASI PATI DARI LIMBAH KULIT SINGKONG SEBAGAI SUMBER KARBON ALTERNATIF MEDIA PERTUMBUHAN RHIZOPUS OLIGOSPORUS SAITO

[Exploration of Starch from Cassava Peel Waste as an Alternative Carbon Source for the Growth Medium of *Rhizopus oligosporus Saito*]

Alima Assaajidah¹, Evi Susanti¹, Indra Kurniawan Saputra^{1✉},

¹Departemen Sains Terapan, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Malang, Malang

ABSTRACT

*Cassava (Manihot esculenta Crantz) is an important staple food for around 800 million people, mainly in tropical regions, with global production increasing by around 100 million tons since 2000. In Indonesia, increased cassava consumption also generates cassava peel waste, which is generally discarded or used as low economic value animal feed. Poorly managed disposal can lead to environmental pollution and methane gas emissions. Cassava peel, with a starch content of up to 36%, has the potential as an alternative medium for microorganism growth that is cheaper than commercial media such as Potato Dextrose Agar (PDA). This study aims to utilize cassava peel waste as a growth medium for *Rhizopus oligosporus Saito*, a fungus used in food fermentation and capable of producing high-value secondary metabolites. So it is necessary to develop alternative media that are efficient and environmentally friendly for microbial growth. The research methods included characterization of *R. oligosporus Saito*, inoculum preparation, cassava peel starch powder preparation, and optimization of cassava peel starch concentration, glucose, and media pH using Submerged Fermentation (SmF). The results showed that *R. oligosporus Saito* can grow on cassava peel-based alternative media with optimum conditions at 40 g/L cassava peel starch, 10 g/L glucose, and pH 6 – 6.5. This research shows the potential of cassava peel as an economical and environmentally friendly carbon source, while supporting the development of biotechnology products based on organic waste.*

Keywords: Cassava peel, growth medium, *rhizopus oligosporus saito*

ABSTRAK

Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) merupakan makanan pokok penting bagi sekitar 800 juta orang, terutama di wilayah tropis, dengan peningkatan produksi global sekitar 100 juta ton sejak tahun 2000. Di Indonesia, konsumsi singkong yang meningkat turut menghasilkan limbah kulit singkong, yang umumnya dibuang atau digunakan sebagai pakan ternak bernilai ekonomi rendah. Pembuangan yang tidak dikelola dengan baik dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan emisi gas metana. Kulit singkong, dengan kandungan pati mencapai 36%, memiliki potensi sebagai media alternatif pertumbuhan mikroorganisme yang lebih murah dibandingkan media komersial seperti *Potato Dextrose Agar* (PDA). Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah kulit singkong sebagai media pertumbuhan *Rhizopus oligosporus Saito*, jamur yang digunakan dalam fermentasi pangan dan mampu menghasilkan metabolit sekunder bernilai tinggi. Maka dibutuhkan pengembangan media alternatif yang efisien dan ramah lingkungan untuk pertumbuhan mikroba. Metode penelitian meliputi karakterisasi *R. oligosporus Saito*, persiapan inokulum, pembuatan bubuk pati kulit singkong, serta optimasi konsentrasi pati kulit singkong, glukosa, dan pH media menggunakan fermentasi substrat cair (SmF). Hasil menunjukkan bahwa *R. oligosporus Saito* dapat tumbuh pada media alternatif berbasis kulit singkong dengan kondisi optimum pada 40 g/L pati kulit singkong, 10 g/L glukosa, dan pH 6 – 6.5. Penelitian ini menunjukkan potensi kulit singkong sebagai sumber karbon yang ekonomis dan ramah lingkungan, sekaligus mendukung pengembangan produk bioteknologi berbasis limbah organik.

Kata Kunci: Kulit singkong, media pertumbuhan, *Rhizopus oligosporus Saito*

PENDAHULUAN

Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan komoditas penting dengan konsumsi rata-rata 5,3 kg/kapita/tahun dan meningkat sebesar 1,52% pada tahun 2023 (Komalasari et al., 2023). Peningkatan konsumsi singkong ini menyebabkan peningkatan limbah kulit singkong yang dihasilkan, yaitu sekitar 15-20% dari berat singkong (Suryati et al., 2017). Saat ini limbah kulit singkong hanya dibuang atau digunakan sebagai pakan ternak dengan nilai ekonomi yang rendah (Azzahra & Halkis, 2022), sehingga berpotensi menimbulkan masalah lingkungan. Namun, limbah kulit singkong memiliki potensi ekonomi yang signifikan karena kandungan patinya yang tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan mikroba.

Mikroorganisme memerlukan media dengan kandungan nutrisi yang sesuai untuk mendukung pertumbuhannya. Salah satu media yang umum digunakan untuk pertumbuhan kapang dan khamir adalah Potato Dextrose Agar (PDA), karena mengandung komponen penting seperti sumber karbon dan nitrogen yang mendukung pertumbuhan mikroba (Black, 2020). Namun, media PDA instan memiliki kelemahan dari segi biaya karena harganya yang relatif mahal, terutama untuk penggunaan skala besar dalam penelitian atau produksi mikroba.

Sebagai alternatif, kulit singkong berpotensi digunakan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme. Komposisi kimia kulit singkong identik dengan singkong, yang mengandung sebagian besar polisakarida seperti pati, serta mineral (Fe, K, Mg, P, Na, Mn, dan Zn), dan air (Khalil, 2022; Pondja Jr. et al., 2017). Kulit singkong diketahui mengandung sekitar 36% pati yang dapat berfungsi sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikroorganisme (Sriyana & Nasita, 2019). Selain kandungan patinya, limbah ini juga telah terbukti mampu mendukung pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme seperti *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, dan *Trametes polyzona* (Acheampong et al., 2021; Badmos et al., 2021; Lateef & Kana, 2012), sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai media alternatif yang lebih ekonomis.

Rhizopus oligosporus Saito merupakan jamur yang banyak digunakan dalam industri dan telah diakui sebagai jamur yang aman oleh *Food and Agriculture Organization* (FAO) (Singh & Gaur, 2021). Keunggulan *R. oligosporus* terletak pada kemampuannya menghasilkan berbagai enzim hidrolitik seperti amilase, selulase, xilanase, lipase, dan protease yang memungkinkannya untuk memecah dan memanfaatkan berbagai substrat kompleks, termasuk polisakarida seperti pati (Lim et al., 2022). Hal ini menjadikan *R. oligosporus* sangat potensial untuk tumbuh pada media alternatif yang mengandung limbah lignoselulosa, seperti kulit singkong, yang kaya akan pati dan komponen nutrisi lainnya. Dengan demikian, karakteristik enzimatik *R. oligosporus* mendukung kemampuannya untuk menggunakan kulit singkong sebagai sumber karbon. Namun, pemanfaatan *R. oligosporus* dengan media alternatif berbasis kulit singkong masih belum banyak diteliti.

R. oligosporus Saito diketahui mampu tumbuh pada berbagai limbah agroindustri. Limbah agroindustri yang banyak digunakan antara lain ampas kedelai, dedak padi, kulit kentang, dan ampas singkong (Agista et al., 2024; Zhang et al., 2016). Penelitian menunjukkan bahwa limbah-limbah tersebut dapat menyediakan nutrisi dan substrat kompleks yang dapat dimanfaatkan oleh *R. oligosporus* untuk pertumbuhannya. Pertumbuhan optimal *R. oligosporus* Saito umumnya membutuhkan media yang mengandung glukosa, fosfat, dan beberapa asam amino serta kondisi aerob pada suhu 30-35°C dan pH berkisar antara 4-6 (Sephton-Clark & Voelz, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pati kulit singkong, glukosa, dan pH terhadap pertumbuhan *Rhizopus oligosporus* Saito yang diukur melalui kadar protein ekstrak kasar dan konsumsi glukosa.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian yaitu limbah kulit singkong yang didapat dari penjual singkong di Tlogomas, Lowokwaru, Kota Malang. Bahan-bahan lain yang diperlukan adalah isolat murni *R. oligosporus* Saito, *potato dextrose agar* (PDA), *potato dextrose broth* (PDB), KH_2PO_4 , urea,

kapas, kertas coklat, aluminium foil, akuades, kertas saring halus, kertas saring Whatman No. 01, NaOH, HCl, larutan buffer pH 4 dan 7, reagen DNS, Serva Blue G Dye, bovine serum albumin, etanol 95%, asam fosfat 85%.

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian yaitu (1) peralatan gelas terdiri dari Erlenmayer (250 mL), gelas ukur (10; 100; dan 250 mL), gelas piala (100; 250; dan 500 mL), labu ukur (10; 50; dan 100 mL), tabung reaksi, cawan Petri, botol Schott, dan batang pengaduk. (2) Alat instrument yaitu spektrofotometer UV-Vis (BIO-ONE), sentrifuse (Beckman Coulter Allegra X-30R *centrifuge*), (3) Peralatan tambahan terdiri dari neraca analitik (SOJIKYO), *drying oven* (DHG-9030A), *waterbath shaker* (Jisico J-SWB19), vortex (MX-S 2500 rpm DLAB), *hotplate stirrer* (SH-2), pH meter (Lutron), autoklaf (GEA YX-18LM), *laminar airflow*, *incubator shaker*, mikropipet kapasitas 20-200 μL (*One Touch* Sorenson), mikropipet 100-1000 μL (*One Touch* Sorenson), tip kuning, tip biru, tabung sentrifugasi 50 mL, ose, spirtus, kulkas (SHARP), blender (PHILIPS).

Metode

Karakterisasi *Rhizopus Oligosporus Saito*

Jamur *R. oligosporus* Saito yang akan digunakan sebagai perlakuan dikarakterisasi terlebih dahulu pada media PDA di cawan Petri. Caranya adalah mengambil 1 ose biakan jamur murni kemudian diinokulasikan pada media PDA. Selanjutnya diinkubasi selama 5 hari pada suhu 27°C. Pengamatan karakteristik isolat kapang dilakukan secara makroskopik dengan mengamati morfologi koloni, warna dan permukaan koloni (Kolapo et al., 2021). Isolat jamur yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi FNCC (*Food and Nutrition Culture Collection*), Universitas Gadjah Mada, dengan kode katalog FNCC 6010 yang identik dengan NRRL 2710 (*Rhizopus oligosporus* Saito).

Preparasi Mikroorganisme Inokulum

Jamur *R. oligosporus* Saito yang akan digunakan sebagai perlakuan diremajakan terlebih dahulu pada media PDA miring untuk mendapatkan biakan yang baru dan muda, sehingga optimal dalam pertumbuhannya (Yastanto, 2020). Caranya adalah mengambil 1 gores biakan jamur murni menggunakan enten kemudian diinokulasikan pada media PDA miring. Meskipun konsentrasi inokulum spesifik tidak dihitung secara langsung, 1 ose dari biakan murni *Rhizopus oligosporus* diasumsikan setara dengan sekitar 10^6 - 10^8 spora per milliliter, tergantung pada kondisi kultur dan teknik inokulasi yang digunakan. Selanjutnya diinkubasi selama 5 hari pada suhu 27°C dan siap digunakan untuk kultivasi selanjutnya.

Preparasi Pati Limbah Kulit Singkong

Pembuatan bubuk pati kulit singkong

Kulit singkong diolah menjadi pati sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Indriyati et al dengan sedikit modifikasi (Indriyati et al., 2022). Kulit singkong dipisahkan dari daging buah bagian dalam dan luar dengan pisau bersih. Sebanyak 100 g kulit singkong yang sudah dipisahkan dicuci kembali dengan air bersih dan direndam selama 2 hari. Setelah direndam, kulit singkong dibilas dengan air bersih kemudian dipotong kecil-kecil untuk diblender dengan perbandingan kulit singkong dengan air 1:4. Kulit singkong yang telah diblender dидiamkan selama 45 menit, kemudian disaring menggunakan kain saring. Didiatkan selama 12 jam untuk mengendapkan pati agar dapat dipisahkan dengan air. Setelah pemisahan, sisa residu pati putih dijemur untuk menghilangkan semua kelembapannya, kemudian dikeringkan lebih lanjut dalam oven pada suhu 70°C untuk menghilangkan sisa air yang kemudian dihaluskan dengan grinder dan diayak. Dilakukan analisis kadar gula.

Penentuan kadar glukosa pati kulit singkong

Sebanyak 0,05 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 mL. asam sulfat 1,5 M dan dipanaskan di dalam waterbath selama 20 menit. Setelah dingin, sampel ditambahkan 6 mL NaOH 10% lalu diaduk. Kemudian sampel disaring dan tabung reaksi dibilas dengan aquades, lalu ditambahkan akuades hingga volumenya 50 mL pada labu ukur. Filtrat sampel diambil sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Didapatkan larutan sampel yang kemudian diuji kadar glukosanya (Pinta et al., 2017).

Analisis kadar glukosa dilakukan dengan metode DNS (dinitrosalisilat) yaitu sampel dipipet sebanyak 0,25 mL ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,25 mL reagen DNS dan 1 mL aquades lalu dipanaskan dalam penangas air pada suhu 90°C selama 5 menit agar terjadi reaksi antara glukosa dengan DNS. Setelah dingin, ditambahkan akuades hingga volumenya 5 mL kemudian dihomogenkan dengan vortex. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm (Pratiwi et al., 2018). Kadar glukosa dihitung dengan persamaan kurva larutan standar yang diperoleh yaitu $y = 0,2763x - 0,0255$. Kadar gula dinyatakan sebagai kadar glukosa dari filtrat yang diperoleh.

Optimasi Konsentrasi Pati Kulit Singkong dan Glukosa terhadap Pertumbuhan *R. oligosporus* Saito dengan SmF**Kultivasi *R. oligosporus* Saito pada medium kulit singkong**

Penentuan konsentrasi kulit singkong sebagai sumber karbon yang paling efektif untuk pertumbuhan kapang *R. oligosporus* Saito dilakukan dengan menumbuhkan kapang pada berbagai variasi konsentrasi kulit singkong dan berbagai konsentrasi glukosa dengan penambahan urea dan KH_2PO_4 (Wachid & Ningrum, 2017). Pada riset ini, kulit singkong sebagai substrat dan glukosa ditambahkan ke dalam larutan garam mineral yang mengandung 3g/L urea dan 4g/L KH_2PO_4 pada Erlenmeyer dengan masing-masing tiga kali pengulangan pada variasi konsentrasi berikut:

S1G1 (bubuk pati kulit singkong 20g/L + glukosa 10g/L)

S1G2 (bubuk pati kulit singkong 20g/L + glukosa 20g/L)

S1G3 (bubuk pati kulit singkong 20g/L + glukosa 30g/L)

S2G1 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 10g/L)

S2G2 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 20g/L)

S2G3 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 30g/L)

Media kemudian dihomogenkan dan disterilkan pada suhu 121°C selama 20 menit dalam autoklaf dengan volume total media 50 ml per perlakuan. Setelah itu, media didinginkan pada suhu kamar dan diinokulasi dengan biakan *R. oligosporus* Saito dalam aliran udara laminar menggunakan enten steril. Kemudian kultur diinkubasi dalam shaker dengan kecepatan 160 rpm pada suhu 30°C (Guneser et al., 2017).

Setelah lima hari, kultur dipanen kemudian dianalisis pertumbuhannya dengan menganalisis kandungan protein ekstrak kasar dalam medium. Kultur *R. oligosporus* Saito disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang didapat kemudian di sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit pada 4°C. Filtrat ditampung dalam tabung baru untuk dilakukan pengujian protein dengan metode Bradford dan pengujian kadar glukosa dengan metode DNS.

Penentuan kadar protein dan glukosa kultivasi

Analisis kadar protein dilakukan dengan metode Bradford untuk mengukur total protein ekstraseluler kasar (Kielkopf et al., 2020). Sebanyak 0,2 mL filtrat hasil sentrifugasi sampel ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL reagen Bradford. Filtrat yang digunakan merupakan hasil dari proses sentrifugasi kultur, yang bertujuan untuk memisahkan biomassa sehingga hanya protein yang terlarut di medium (protein ekstraseluler) yang dianalisis. Campuran divortex lalu diinkubasi pada suhu ruang di tempat gelap selama 5 menit. Absorbansi larutan diukur menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 595 nm. Kadar protein dihitung dengan persamaan kurva larutan standar. Analisis kadar glukosa dilakukan dengan metode yang sama dengan metode pengukuran glukosa kulit singkong (Pratiwi et al., 2018).

Optimasi pH terhadap Pertumbuhan *R. oligosporus* Saito dengan SmF

Optimasi pH yang paling efektif untuk pertumbuhan kapang *R. oligosporus* Saito dilakukan dengan menumbuhkan kapang pada konsentrasi sumber karbon yang paling efektif. Kulit singkong sebagai substrat dan glukosa yang paling efektif ditambahkan ke dalam larutan garam mineral yang mengandung 3g/L urea dan 4g/L KH_2PO_4 pada Erlenmeyer kemudian diatur menjadi pH 5, 5.5, 6, dan 6.5 dengan penambahan NaOH 1 M apabila kurang basa atau HCl 1 M apabila kurang asam. Rentang pH tersebut dipilih karena berada dalam kisaran pH optimal pertumbuhan *R. oligosporus*, yaitu antara pH 5 hingga 6,5, di mana aktivitas enzimatis dan pertumbuhan sel berada dalam kondisi terbaik (Sephton-Clark & Voelz, 2018). Media kemudian di homogenkan dan disterilkan pada suhu 121°C selama 20 menit dalam autoklaf. Setelah itu, media didinginkan pada suhu kamar dan diinokulasi dengan biakan *R. oligosporus* Saito dalam aliran udara laminar menggunakan enten steril. Kemudian kultur diinkubasi dalam shaker dengan kecepatan 160 rpm pada suhu 30°C (Guneser et al., 2017).

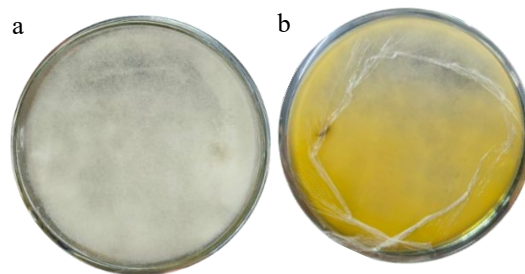
Setelah lima hari, kultur dipanen kemudian dianalisis pertumbuhannya dengan menganalisis kandungan protein ekstrak kasar dalam medium. Kultur *R. oligosporus* Saito disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang didapat kemudian di sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit pada 4°C. Filtrat ditampung dalam tabung baru untuk dilakukan pengujian protein dengan metode Bradford dan pengujian kadar glukosa dengan metode DNS yang sama dengan metode penentuan kadar protein dan glukosa pada tahap sebelumnya.

Analisis Data

Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk rerata $\pm$ standar deviasi dari tiga kali ulangan (triplo). Analisis dilakukan secara deskriptif untuk menginterpretasi tren perubahan kadar protein dan konsumsi glukosa antar perlakuan. Perbedaan antar kelompok data juga dilakukan dengan uji signifikansi secara statistik melalui ANOVA satu arah dan dua arah dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0.05$. ANOVA dilakukan dengan menggunakan Microsoft Excel 365. Selanjutnya, interpretasi praktis dilakukan untuk mengetahui signifikansi di antara kelompok data setiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi *Rhizopus oligosporus* Saito



Gambar 1. Pertumbuhan *R. oligosporus* Saito pada Media PDA. [a] bagian depan media PDA, [b] bagian belakang media PDA

Hasil pengamatan makroskopis isolat *R. oligosporus* Saito menunjukkan ciri khas koloni berwarna putih keabuan dengan tekstur koloni seperti kapas seperti pada gambar 1a. Pertumbuhan kapang genus *Rhizopus* sp. biasanya ditandai dengan perkembangan dari kumpulan hifa yang bercabang berbentuk seperti kapas (*cottony*) (Jagat et al., 2021). Hasil penelitian mengenai morfologi makroskopis kapang yang dilakukan oleh Nurholipah dan Ayun (2021) menunjukkan bahwa *R. oligosporus* Saito yang

ditumbuhkan pada media PDA memiliki ciri-ciri koloni berwarna putih keabuan (Nurholipah & Ayun, 2021). Isolat yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari FNCC UGM dengan kode katalog 6010 (NRRL 2710), sehingga dapat disimpulkan bahwa kapang yang tumbuh pada penelitian ini memiliki kesesuaian morfologi dengan kapang *R. oligosporus* Saito.

Preparasi Mikroorganisme Inokulum

Hasil peremajaan isolat kapang *R. oligosporus* Saito pada media PDA ditampilkan pada Gambar 2. Pertumbuhan spora pada media PDA miring sudah terlihat dari hari ketiga inkubasi. Spora *R. oligosporus* Saito terlihat putih keabu-abuan setelah lima hari inkubasi.



Gambar 2. Pertumbuhan *R. oligosporus* Saito setelah 5 hari inkubasi
Keterangan: ketiga tabung reaksi merupakan ulangan perlakuan

Peremajaan kapang dilakukan pada media PDA miring untuk mendapatkan biakan yang baru sehingga optimal dalam pertumbuhannya serta memproduksi senyawa metabolit sekunder (Liang et al., 2023). Selain itu, biakan kapang pada media miring mudah disimpan pada suhu rendah sehingga sering digunakan untuk pengawetan isolat (Prakash et al., 2020).

Preparasi Limbah Kulit Singkong

Hasil dari proses ekstraksi pati didapatkan bubuk pati kulit singkong dengan warna putih kecoklatan, tidak berbau dan teksturnya halus seperti pada Gambar 3. Rendemen pati yang dihasilkan 1 kg kulit singkong basah yakni 46,1 g pati atau sekitar 4,61%. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Wahyuningtyas, et al (2019) yang menunjukkan hasil rendemen pati dari kulit singkong sebesar 5,97% dengan warna coklat terang dan berbentuk serbuk (Wahyuningtyas et al., 2019).



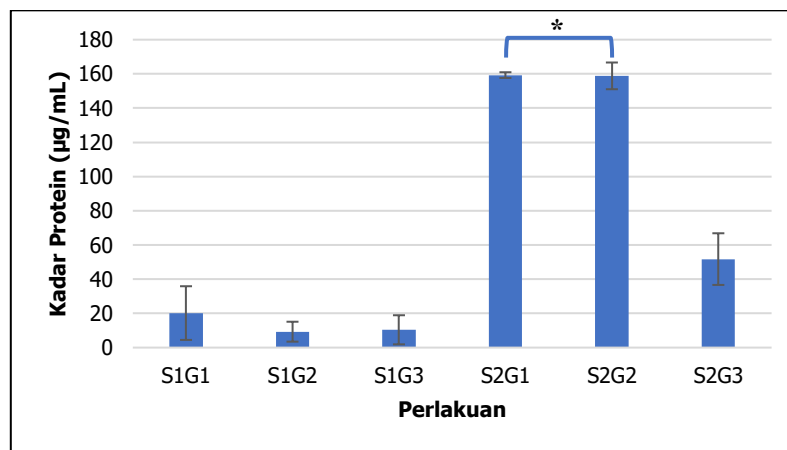
Gambar 3. Bubuk Pati Kulit Singkong

Pengecekan kadar glukosa rendemen pati kulit singkong dilakukan dengan metode DNS. Pengecekan ini dimaksudkan untuk mengetahui kadar awal glukosa yang terkandung dalam kulit singkong. Jika kadar glukosa berlebih akan menimbulkan stress yang mengganggu pertumbuhan strain ini (Nout & Kiers, 2005), sehingga hasil dari analisis ini digunakan sebagai penentu keputusan untuk menambahkan nutrisi, seperti glukosa murni pada tahap selanjutnya. Absorbansi bubuk pati kulit singkong yang didapat yaitu 0,134 A sehingga didapat konsentrasi glukosa bubuk pati kulit singkong

sebesar 0,5775 mg/mL dan kadar pati sebesar 51,97%. Penelitian Tonukari et al (2022) menunjukkan kadar pati kulit singkong sebesar 56,72% tapi tidak dilakukan ekstraksi pati, dan hanya mengecek langsung kadar pati pada kulit singkong yang telah dicuci dan dikeringkan (Tonukari et al., 2023).

Optimasi konsentrasi bubuk kulit singkong dan glukosa terhadap pertumbuhan *R. oligosporus* Saito

Hasil pengukuran kadar protein ekstrak kasar *R. oligosporus* Saito pada berbagai konsentrasi bubuk pati kulit singkong dan glukosa dapat dilihat pada Gambar 4. Pertumbuhan kapang dapat berkorelasi dengan jumlah protein ekstraseluler yang dihasilkan, karena selama fase pertumbuhannya, kapang akan mensekresikan berbagai enzim dan protein ke dalam medium. Sekresi ini umumnya berkaitan dengan aktivitas enzim hidrolitik seperti amilase dan protease yang berperan dalam mendegradasi substrat kompleks seperti pati (Lim et al., 2022). Dengan demikian, kadar protein ekstraseluler dapat digunakan sebagai indikator tidak langsung untuk menilai aktivitas metabolik dan fase pertumbuhan kapang, meskipun bukan merupakan ukuran langsung dari biomassa.



Gambar 4. Hasil pengukuran kadar protein *R. oligosporus* Saito pada berbagai konsentrasi bubuk pati kulit singkong dan glukosa

Keterangan: Standar deviasi didapatkan dengan tiga kali pengulangan.

S1G1 (bubuk pati kulit singkong 20g/L + glukosa 10g/L);

S1G2 (bubuk pati kulit singkong 20g/L + glukosa 20g/L);

S1G3 (bubuk pati kulit singkong 20g/L + glukosa 30g/L);

S2G1 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 10g/L);

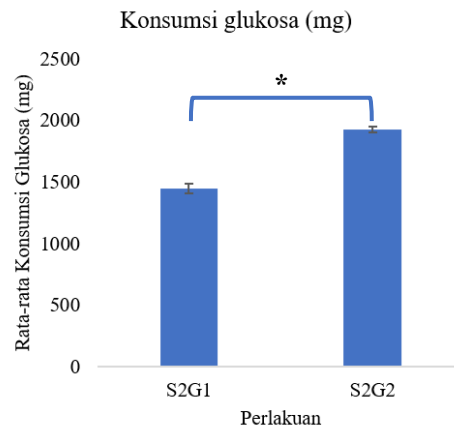
S2G2 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 20g/L);

S2G3 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 30g/L).

* = tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada $\alpha = 0.05$.

Perlakuan dengan S2G1 menunjukkan kadar protein tertinggi dengan rata-rata 159,289 µg/mL, diikuti oleh S2G2 dengan rata-rata 158,844 µg/mL. Perlakuan lainnya, seperti S1G1, S1G2, S1G3, dan S2G3, menunjukkan kadar protein yang lebih rendah dibandingkan S2G1. Hasil ANOVA dua arah dengan faktor konsentrasi glukosa dan kulit singkong terhadap kadar protein menunjukkan hasil yang signifikan pada taraf 5%. Interaksi antara kedua faktor juga signifikan yang berarti bahwa efek glukosa bergantung pada kadar bubuk singkong. Lalu, pengujian data signifikansi dilanjutkan terhadap rerata tertinggi yakni S2G1 dan S2G2, diketahui bahwa kedua pengaruh tersebut tidak menunjukkan signifikansi yang berbeda pada taraf 5%. Akan tetapi, tingkat konsumsi glukosa dari kedua perlakuan tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan yang terlihat pada Gambar 5. Perbedaan kondisi tersebut menunjukkan bahwa konsumsi glukosa tidak selalu berkorelasi terhadap pembentukan protein atau pertumbuhan kapang dalam konteks penelitian ini. Hal ini bisa disebabkan karena adanya stress

pada kondisi tinggi glukosa, yang juga terlihat pada perlakuan S2G3 dengan penambahan glukosa hingga 30 g/L. Hasil ini juga selaras dengan penelitian sebelumnya yakni konsumsi glukosa yang terlalu tinggi dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme, seperti akumulasi metabolit sampingan berupa asam organik atau alkohol, yang justru dapat menghambat pertumbuhan lebih lanjut (Sephton-Clark & Voelz, 2018). Dengan demikian, perlakuan S2G1 dilakukan uji selanjutnya dengan pertimbangan lebih efektif dalam pemanfaatan glukosa sebesar 10 g/L.

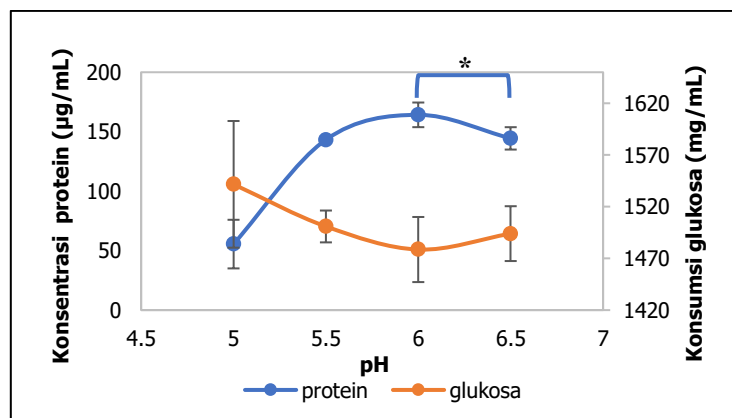


Gambar 5. Konsumsi Glukosa *R. oligosporus* Saito pada Berbagai Konsentrasi Bubuk Pati Kulit Singkong dan Glukosa setelah 5 hari

Keterangan: Standar deviasi didapatkan dengan tiga kali pengulangan. S2G1 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 10g/L) dan S2G2 (bubuk pati kulit singkong 40g/L + glukosa 20g/L). * = terdapat perbedaan yang signifikan pada $\alpha = 0.05$

Optimasi pH terhadap Pertumbuhan *R. oligosporus* Saito

Hasil pengukuran pertumbuhan *R. oligosporus* Saito pada berbagai pH dapat dilihat pada Gambar 9. Data dan grafik yang ditampilkan menunjukkan konsentrasi protein ($\mu\text{g/mL}$) pada berbagai perlakuan pH setelah tiga kali ulangan. Perlakuan dengan pH 6 dan pH 6.5 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap jumlah konsentrasi yang dihasilkan. Dari data ini, dapat disimpulkan bahwa pertumbuhan kapang *R. oligosporus* Saito paling optimum terjadi pada pH 6 – 6.5, di mana tingginya kadar protein ekstraseluler merupakan indikator tidak langsung untuk menilai aktivitas metabolik dan fase pertumbuhan kapang, meskipun bukan merupakan ukuran langsung dari biomassa pertumbuhan kapang yang lebih tinggi.



Gambar 6. Hasil Pengukuran Kadar Protein dan Konsumsi Glukosa *R. oligosporus* Saito pada Berbagai pH

Keterangan: Standar deviasi didapatkan dengan tiga kali pengulangan. * = tidak menunjukkan signifikansi pada $\alpha = 0.05$.

Secara biologis, pH memengaruhi konformasi dan aktivitas enzim, termasuk enzim hidrolitik seperti amilase dan protease. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa produksi amilase oleh *R. oligosporus* mencapai titik optimum pada pH 6,0, meskipun aktivitas spesifik enzim dapat lebih tinggi pada pH 5,0 (Lopes et al., 2024). pH yang sesuai dapat menjaga kestabilan struktur protein dan mendukung efisiensi reaksi metabolik. pH terlalu rendah atau tinggi dapat menyebabkan denaturasi enzim, menurunkan efisiensi pemanfaatan substrat dan transport nutrisi ke dalam sel. Oleh karena itu, pH 6 yang mendekati netral mendukung kondisi metabolik yang stabil dan optimal bagi pertumbuhan kapang.

Informasi ini dapat dijadikan sebagai landasan dalam pengembangan *R. oligosporus* Saito sebagai bio-pabrik selanjutnya. Potensi penerapan di bidang industri seperti produksi enzim amilase, selulase, protease, protein sel Tunggal, serta biokonversi limbah kulit singkong yang dapat menurunkan biaya produksi (Chettri et al. 2015), sehingga memberikan pilihan dalam pengembangan industri berbasis fermentasi dalam menggantikan inang yang belum efektif pada umumnya.

KESIMPULAN

Rhizopus oligosporus Saito dapat tumbuh pada media alternatif berbasis kulit singkong dengan penambahan glukosa untuk memicu pertumbuhan kapang. Kondisi optimum pertumbuhan kapang *R. oligosporus* Saito tumbuh pada media alternatif kulit singkong yaitu pada penambahan 40 g/L bubuk pati kulit singkong dan 10 g/L glukosa dan ditumbuhkan pada rentang pH 6 – 6.5. Analisis deskriptif terhadap kadar glukosa akhir menunjukkan bahwa kapang memanfaatkan glukosa sebagai sumber karbon untuk mendukung metabolisme dan pertumbuhannya. Namun, variasi pH dalam rentang 5,0 hingga 6,5 tidak secara signifikan memengaruhi tingkat konsumsi glukosa oleh *R. oligosporus* Saito. Hal ini menunjukkan bahwa efisiensi konsumsi glukosa lebih dipengaruhi oleh ketersediaan substrat dan keseimbangan metabolik, bukan oleh kondisi pH dalam rentang tersebut. Penemuan ini dapat memberikan gambaran optimasi dalam pemanfaatan *Rhizopus oligosporus* Saito dengan memberi peluang penggunaan media limbah kulit singkong, sebagai alternatif bio-pabrik dalam menghasilkan senyawa-senyawa bernilai tinggi yang dapat menurunkan biaya produksi di industri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterimakasih kepada Universitas Negeri Malang, yang telah mendanai sebagian dari riset ini melalui skema internal Universitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Acheampong, N. A., Akanwariwiak, W. G., Mensah, M., Fei-Baffoe, B., Offei, F., Bentil, J. A., & Borquaye, L. S. (2021). Optimization of hydrolases production from cassava peels by *Trametes polyzona* bkw001. *Scientific African*, 12, e00835. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00835>.
- Agista, A. Z., Chien, Y.-S., Koseki, T., Nagaoka, H., Ohnuma, T., Ohsaki, Y., Yeh, C.-L., Yang, S.-C., Ardiansyah, Budijanto, S., Komai, M., & Shirakawa, H. (2024). Investigation of *Rhizopus oligosporus* metabolites in fermented wheat bran and its bio function in alleviating colitis in mice model. *Metabolites*, 14(7), 359. <https://doi.org/10.3390/metabo14070359>.
- Azzahra, S., & Halkis, M. (2022). Fermentation of cassava skin as additional octan value of fuel. *Journal of Energy Research and Reviews*, 11(2), 31–35. <https://doi.org/10.9734/jenrr/2022/v11i230274>.
- Badmos, S. A., Adesanmi, A. J., Tijani, M. O., Adeyinka, O. T., Babatunde, P. F., Sanusi, A. B., Ifijeh, O. J., & Ayoola, A. J. (2021). Production and optimization of alpha amylase from *Aspergillus niger* using TME 419 cassava peel as substrate. *African Journal of Biological Sciences (South Africa)*, 3(4), 50–59. <https://doi.org/10.33472/AFJBS.3.4.2021.50-59>.
- Black, W. D. (2020). A comparison of several media types and basic techniques used to assess outdoor

- airborne fungi in Melbourne, Australia. *PLOS ONE*, 15(12), e0238901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238901>.
- Chettri et al. (2015). Fermentation of food waste to produce bioactive compounds: potential applications of fungi. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(1), 1-11.
- Guneser, O., Demirkol, A., Yuceer, Y. K., Togay, S. O., Hosoglu, M. I., & Elibol, M. (2017). Production of flavor compounds from olive mill waste by *Rhizopus oryzae* and *Candida tropicalis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(2), 275–285. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.08.003>.
- Indriyati, O., Nurrahmania, V., & Wibowo, T. (2022). Pengolahan limbah kulit singkong sebagai upaya mengurangi pencemaran lingkungan. *Jurnal Pengolahan Pangan*, 7(1), 33–37.
- Jagat, L. M. S. S., Darmayasa, I. B. G., & Wijana, I. M. S. (2021). Potential *Rhizopus* spp. in control the growth of *Aspergillus flavus* FNCC6109 in broiler chicken concentrate feed. *Jurnal Biologi Udayana*, 25(2), 147. <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2021.v25.i02.p06>.
- Khalil, K. (2022). Values of cassava tuber peels produced in the farms and home-scale snack food industries as feed based on yield rate, crude nutrient, and mineral composition. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*, 17(2), 75–81. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.17.2.75-81>.
- Kielkopf, C. L., Bauer, W., & Urbatsch, I. L. (2020). Bradford assay for determining protein concentration. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2020(4). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot102269>.
- Kolapo, A. L., Salami, R. O., Onajobi, I., Oluwafemi, F., Fawole, A. O., & Ebunoluwa, O. (2021). Detoxification and nutritional enrichment of cassava waste pulp using *Rhizopus oligosporus* and *Aspergillus niger*. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati*, 45(1), 52–68.
- Komalasari, W. B., Sabarella, Manurung, M., Sehusman, Supriyati, Y., Rinawati, Seran, K., & Nanuri, M. D. (2023). Statistik Konsumsi Pangan Tahun 2023. In S. Endah & S. Wahyuningsih (Eds.), *Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian* (Issue December). Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. <https://repository.pertanian.go.id>.
- Lateef, A., & Kana, E. B. G. (2012). Utilization of cassava wastes in the production of fructosyltransferase by *Rhizopus stolonifer* LAU 07. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(3), 7309–7316.
- Liang, X., Gong, T., Chen, J.-J., Chen, T.-J., Yang, J.-L., & Zhu, P. (2023). Influence of long-term agar-slant preservation at 4°C on the recombinant enzyme activity of engineered yeast. *Fermentation*, 9(2), 104. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020104>.
- Lim, J., Nguyen, T. T. H., Pal, K., Gil Kang, C., Park, C., Kim, S. W., & Kim, D. (2022). Phytochemical properties and functional characteristics of wild turmeric (*Curcuma aromatica*) fermented with *Rhizopus oligosporus*. *Food Chemistry: X*, 13, 100198. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100198>.
- Lopes, P. H. S., Pasin, T. M., Benassi, V. M., Nelson, D. L., Oliveira, T. B. de, & Polizeli, M. de L. T. de M. (2024). Standardization of the cultivation of *Rhizopus arrhizus* using agroindustrial residues: high production of amylases in pineapple peel. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 67. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2024240293>.
- Nuot, M.J.R., & Kiers, J.L. (2005) Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millennium. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 789–805. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02471.x>.
- Nurholipah, N., & Ayun, Q. (2021). Isolasi dan identifikasi *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* pada tempe asal Bekasi. *Jurnal Teknologi Pangan*, 15(1).

<https://doi.org/10.33005/JTP.V15I1.2742>.

- Pinta, Lolo, W. A., & Yamlean, P. V. Y. (2017). Identifikasi kandungan fitokimia dan uji kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum ekstrak etanol daun pangi (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) terhadap pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*. *Pharmakon: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(3), 260–267.
- Pondja Jr., E. A., Persson, K. M., & Matsinhe, N. P. (2017). The potential use of cassava peel for treatment of mine water in Mozambique. *Journal of Environmental Protection*, 08(03), 277–289. <https://doi.org/10.4236/JEP.2017.83021>
- Prakash, O., Nimonkar, Y., & Desai, D. (2020). A recent overview of microbes and microbiome preservation. *Indian Journal of Microbiology*, 60(3), 297–309. <https://doi.org/10.1007/s12088-020-00880-9>
- Pratiwi, Y. H., Ratnayani, O., & Wirajana, I. N. (2018). Perbandingan metode uji gula pereduksi dalam penentuan aktivitas β -l-arabinofuranosidase dengan substrat janur kelapa (*Cocos nucifera*). *Jurnal Kimia*, 134. <https://doi.org/10.24843/jchem.2018.v12.i02.p07>.
- Sephton-Clark, P. C. S., & Voelz, K. (2018). Spore germination of pathogenic filamentous fungi. In S. Sariaslani, & G. M. Gadd (Eds.), *Advances in applied microbiology* (Vol. 102, pp. 117–157). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2017.10.002>.
- Singh, N., & Gaur, S. (2021). GRAS fungi: a new horizon in safer food product. In X. Dai, M. Sharma, & J. Chen (Eds.), *Fungi in sustainable food production* (pp. 27–37). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-64406-2_3
- Sriyana, H. Y., & Nasita, U. (2019). Karakteristik bioetanol hasil fermentasi kulit singkong. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 4(2), 1–5. <https://doi.org/10.31942/inteka.v4i2.3012>
- Suryati, S., Meriatna, M., & Marlina, M. (2017). Optimasi proses pembuatan bioplastik dari pati limbah kulit singkong. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 5(1), 78. <https://doi.org/10.29103/jtku.v5i1.81>
- Tonukari, N. J., Anigboro, A. A., Awioroko, O. J., Egbune, E. O., Ezedom, T., Ajoh, A. I., Edema, U., Apiamu, A., & Aganbi, E. (2023). Biochemical properties and biotechnological applications of cassava peels. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 14(1), 1–8. <https://doi.org/10.5897/BMBR2023.0292>
- Wachid, M., & Ningrum, D. A. (2017). Media dari kulit singkong untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dan aplikasi pada roti. *Seminar Nasional Dan Gelar Produk* (pp. 592–599). Universitas Muhammadiyah Malang.
- Wahyuningtyas, D., Sukmawati, P. D., & Fitria, N. M. A. (2019). Optimasi pembuatan plastik *biodegradable* dari pati kulit singkong dengan penambahan asam sitrat sebagai *crosslinking agent*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"* (pp. 1–8). UPN Veteran Yogyakarta.
- Yastanto, A. J. (2020). Karakteristik pertumbuhan jamur pada media PDA dengan metode *pour plate*. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(2), 33–39.
- Zhang, M., Xie, L., Yin, Z., Khanal, S. K., & Zhou, Q. (2016). Biorefinery approach for cassava-based industrial wastes: current status and opportunities. *Bioresource Technology*, 215, 50–62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.026>