



## Produksi Protein Sel Tunggal dari Kultur *Bacillus cereus* dengan Medium Limbah Cair Tahu

Basaniah Basaniah<sup>1</sup>, Yayuk Putri Rahayu<sup>2</sup>, Haris Munandar Nasution<sup>3</sup>, Gabena Indrayani Dalimunthe<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah

Korespondensi penulis: [basaniahsiregar@gmail.com](mailto:basaniahsiregar@gmail.com)<sup>1</sup>

**Abstract.** Single Cell Protein (PST) is the term used for proteins derived from microbes such as fungi, yeasts and bacteria. One way to deal with the abundance of tofu liquid waste is by using microbiological methods, namely utilizing tofu liquid waste as a substrate for the growth of *Bacillus cereus* microbial growth for single cell protein production. The purpose of this study was to determine whether tofu liquid waste could produce single cell protein from *B. cereus* culture and to determine the difference in protein production by adding nutrients to the fermentation medium. The research method used was experimental research, with the independent variables being MFLT1 fermentation medium (Tofu Liquid Waste Fermentation Medium with the addition of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  nutrients and sugar) and MFLT2 medium (Tofu Liquid Waste Fermentation Medium with the addition of nutrients  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  and sugar); and the length of fermentation on days 0, 2, 4 and 6. While the dependent variables were the analysis of protein content, cell dry weight, glucose content, pH and temperature. The result data in this study were statistically analyzed using the two way Anova method. The results of this study showed that the highest protein content was obtained in MFLT2 medium, namely 0.73% (day 4); cell dry weight 0.253 g; glucose level 1.3339%; pH 3.9 and temperature 29.2°C. Meanwhile, in MFLT1 medium, the highest protein content was 0.46% (4th day); cell dry weight 0.286 g; glucose level 1.3342%; pH 3.9 and temperature 28.8°C. From the research that has been carried out, it can be concluded that tofu liquid waste can produce single cell protein from *B. cereus* culture and there are differences in protein production results with the addition of nutrients, where the protein content in MFLT2 medium is higher than protein content in MFLT1 medium.

**Keywords:** single cell protein, tofu liquid waste, fermentation, *Bacillus cereus*

**Abstrak.** Protein Sel Tunggal (PST) adalah istilah yang digunakan untuk protein yang berasal dari mikrobia seperti jamur, khamir dan bakteri. Salah satu penanganan melimpahnya limbah cair tahu adalah dengan cara mikrobiologis yaitu memanfaatkan limbah cair tahu sebagai substrat pertumbuhan mikrobia *Bacillus cereus* untuk produksi protein sel tunggal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui limbah cair tahu dapat menghasilkan protein sel tunggal dari kultur *B. cereus* dan untuk mengetahui perbedaan produksi protein dengan penambahan nutrisi pada medium fermentasi. Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental, dengan variabel bebas yaitu medium fermentasi MFLT1 (Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu dengan penambahan nutrisi  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan gula) dan medium MFLT2 (Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu dengan penambahan nutrisi  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan gula); dan lama fermentasi hari ke-0,2,4, dan 6. Sedangkan variabel terikat yaitu analisis kadar protein, berat kering sel, kadar glukosa, pH dan suhu. Data hasil pada penelitian ini dianalisis secara statistik dengan metode *two way* Anova. Hasil penelitian ini menunjukkan kadar protein tertinggi diperoleh pada medium MFLT2 yaitu 0,73% (hari ke-4); berat kering sel 0,253 g; kadar glukosa 1,3339%; pH 3,9 dan suhu 29,2°C. Sedangkan pada medium MFLT1 diperoleh kadar protein tertinggi yaitu 0,46% (hari ke-4); berat kering sel 0,286 g; kadar glukosa 1,3342%; pH 3,9 dan suhu 28,8°C. Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa limbah cair tahu dapat menghasilkan protein sel tunggal dari kultur *B. cereus* dan terdapat perbedaan hasil produksi protein dengan penambahan nutrisi, dimana hasil kadar protein pada medium MFLT2 lebih tinggi dibandingkan kadar protein pada medium MFLT1.

**Kata kunci:** Protein Sel Tunggal, Limbah Cair Tahu, Fermentasi, *Bacillus cereus*

## LATAR BELAKANG

Protein sel tunggal (PST) adalah istilah yang digunakan untuk protein yang berasal dari mikrobia seperti jamur, alga, khamir dan bakteri. Istilah ini digunakan mikrobia sebagai pembeda dari protein hewan dan tumbuhan multiseluler. Keuntungan menggunakan protein sel tunggal selain sebagai sumber protein yang tinggi adalah pertumbuhan sel-sel mikrobia sangat cepat karena waktu generasinya yang pendek dan tidak membutuhkan tempat yang luas. Salah satu bakteri yang potensial dikembangkan sebagai agen protein sel tunggal adalah *Bacillus cereus*. Bakteri ini adalah bakteri probiotik memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Nasution *et al*, 2021).

Proses produksi tahu akan menghasilkan produk samping yaitu limbah cair tahu. Dari industri pembuatan tahu terdapat limbah padat dan limbah cair. Limbah cair ini merupakan limbah yang paling banyak dihasilkan. Penyebabnya adalah karena pada setiap tahapan proses pembuatan tahu menggunakan air. Limbah cair ini berasal dari air bekas perendaman kedelai, air bekas proses penggilingan, air kecutan bekas proses penggumpalan tahu jadi. Limbah cair dalam industri tahu sudah menjadi permasalahan yang umum. Limbah cair kebanyakan dibuang langsung ke sungai, pekarangan rumah, atau selokan sehingga mencemari sumber air bersih di lingkungan sekitar pabrik dan menimbulkan polusi udara berupa bau yang sangat menyengat (Haryono & Kurniati, 2013). Air limbah/buangan tahu adalah air yang diperoleh dari proses pembuatan tahu. Apabila dibiarkan tergenang dalam waktu cukup lama, air limbah dapat mengotori (mencemari) lingkungan. Air itu akan mengubah lingkungan menjadi tidak sehat. Jika air itu dibiarkan mengalir pada kolam-kolam ikan atau ke lahan-lahan persawahan, kehidupan ikan ataupun tanaman akan terganggu (Prabandari, 2001). Oleh karena itu, perlu dilakukan penanganan yang tepat dan benar untuk menanggulangi pencemaran yang disebabkan limbah cair tahu.

Salah satu cara penanganan melimpahnya limbah cair tahu adalah secara mikrobiologis, yaitu dengan memanfaatkan limbah cair tahu sebagai substrat pertumbuhan mikrobia. Limbah cair tahu dapat dimanfaatkan lebih lanjut sebagai substrat pertumbuhan mikrobia seperti dalam pembuatan produk protein sel tunggal (PST). Penanggulangan limbah cair tahu secara mikrobiologis ini diharapkan dapat memberikan keuntungan yaitu untuk produksi protein sel tunggal dan mengatasi masalah pencemaran lingkungan yang disebabkan limbah cair tahu. Limbah cair tahu adalah salah satu bahan alami dari limbah cair industri tahu yang cocok dijadikan sebagai media pertumbuhan mikroba (Nasution *et al*, 2021).

Berdasarkan hasil analisis penelitian yang telah dilakukan oleh (Maryana *et al*, 2016), terhadap kemampuan tumbuh jamur *Rhizopus oryzae* pada medium limbah cair tahu, maka

kemungkinan besar limbah cair tahu ini dapat dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikroba baik bakteri, yeast, maupun kapang karena kandungan karbon, nitrogen, dan mineral yang masih tinggi. Selain itu mikroba penghasil protein sel tunggal umumnya tumbuh pada limbah yang mengandung karbon, dan nitrogen yang tinggi.

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang produksi protein sel tunggal dari kultur *Bacillus cereus* dengan memanfaatkan medium limbah cair tahu sebagai mediumnya.

## **METODE PENELITIAN**

### **Rancangan Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat. Dimana variabel bebas yaitu perlakuan penambahan nutrisi dan lama fermentasi untuk melihat variabel terikat yaitu analisis kadar protein, analisis berat kering sel, analisis kadar glukosa, analisis pH dan suhu.

### **Variabel Penelitian**

Penelitian ini menggunakan dua variabel yaitu:

#### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan adalah media fermentasi MFLT1 (limbah cair tahu dengan penambahan nutrisi  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan Gula) dan media fermentasi MFLT2 (limbah cair tahu dengan penambahan nutrisi  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan Gula), dan lama fermentasi yaitu hari ke-0, 2, 4, dan 6.

#### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan adalah analisis kadar protein, analisis berat kering sel, analisis kadar glukosa, analisis pH dan suhu.

### **Parameter Penelitian**

Parameter pada penelitian ini terdiri dari analisis kadar protein untuk mengukur kadar protein dengan menggunakan metode Kjeldahl, analisis berat kering sel, analisis glukosa dengan menggunakan refraktometer, analisis pH dan suhu dengan menggunakan pH meter

### **Jadwal dan Lokasi Penelitian**

#### **Jadwal Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – April 2022

#### **Lokasi Penelitian**

Penelitian ini di lakukan di laboratorium yang berbeda. Fermentasi protein sel tunggal dilakukan dilaboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-

Washliyah Medan. Pengukurankadar protein dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Sumatera Utara. Pengukuran berat kering sel, pH dan suhu dilakukan dilaboratorium terpadu Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.

## **Bahan dan Alat**

### **Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Aquades,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,1%, gula pasir 2%, NaOH 5%, biakan murni bakteri *Bacillus cereus*, selenium, asam sulfat pekat, Indikator metil merah, asam klorida 0,1001 N, medium Natrium Agar (NA).

### **Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker gelas, neraca analitik, pH meter, oven, autoklaf, inkubator, lemari pendingin, pipet, cawan porselein, batang pengaduk, *Laminar air flow*, erlenmeyer, kawat ose, *cling wrap*, pisau cutter, cawan petri, panci *stainless steel*, spatula, glass ukur, waterbath.

## **Pembuatan Reagen**

### **1. Asam Klorida (HCL) 0,1 N**

Pembuatan larutan HCL 0,1 N sesuai dengan prosedur yang tercantum pada Farmakope Edisi III Tahun 1979. Encerkan 8,3 ml HCL<sub>(p)</sub> dengan air suling hingga 1000 ml.

### **2. Asam Borat (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 3%**

Pembuatan larutan asam borat ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) 3% sesuai dengan prosedur yang tercantum pada Farmakope Edisi III tahun 1979. Dilarutkan 3 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$  dengan air suling hingga 100 ml.

### **3. Natrium Hidroksida (NaOH) 30%**

Pembuatan larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 30% sesuai dengan prosedur yang tercantum pada Farmakope Edisi III tahun 1979. Dilarutkan 30 g NaOH dengan air suling hingga 100 ml.

### **4. Indikator Metil Merah 0,2%**

Ditimbang 0,2 g indikator metil merah dilarutkan dengan etanol 96% sampai 100 ml.

### **5. Indikator Metil Biru 0,2%**

Ditimbang 0,2 g indikator metil biru dilarutkan dengan etanol 96% sampai 100 ml.

### **6. Indikator Tashiro**

Dicampurkan 2 bagian indikator metil biru 0,2% dan 1 bagian indikator metil merah 0,2% dalam etanol 96%.

## Prosedur Penelitian

### Pengambilan Sampel

Limbah cair tahu diambil dari pembuatan tahu kedelai berskala *home industry* di karang rejo. Sebanyak 1 liter limbah cair tahu dimasukkan ke dalam jerigen bersih dan ditutup rapat.

### Pengolahan Sampel

Sampel limbah cair tahu disaring kemudian filtratnya dimasukkan ke dalam beaker kemudian dipasteurisasi dengan cara limbah dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 menit, didinginkan dalam lemari es selama 30 menit dan dibiarkan pada suhu kamar 23°C selama 24 jam. Proses pasteurisasi ini dilakukan sebanyak tiga kali (Somaye dkk, 2008).

### Penyiapan Formulasi Medium fermentasi

**Tabel 1.** Formulasi Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu

Komposisi	Medium Fermentasi	
	MFLT 1	MFLT 2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,1% (0,2 g)	0,1% (0,2 g)
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	0,1% (0,2 g)
Gula	2% (4 g)	2% (4 g)
Filtrat limbah cair tahu	ad 200 ml	ad 200 ml

Pembuatan medium fermentasi dilakukan dengan cara erlenmeyer dikalibrasi terlebih dahulu kemudian disterilkan. Erlenmeyer pertama yang sudah steril dimasukkan nutrisi KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% dari 200 ml yaitu sebanyak 0,2 gram, ditambahkan gula pasir 2% dari 200 ml yaitu sebanyak 4 gram, ditambahkan filtrat limbah cair tahu yang sudah steril sampai tanda batas kalibrasi (MFLT1), ditambahkan NaOH sampai pH dari medium fermentasinya 6, kemudian disterilkan dengan cara dipanaskan dengan suhu 100°C selama 5 menit, kemudian didinginkan dengan cara dibiarkan di suhu ruang.

Erlenmeyer kedua yang sudah steril dimasukkan nutrisi KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% dari 200 ml yaitu sebanyak 0,2 gram, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1% dari 200 ml yaitu sebanyak 0,2 gram ditambahkan gula pasir 2% dari 200 ml yaitu sebanyak 4 gram, ditambahkan filtrat limbah cair tahu yang sudah steril sampai tanda batas kalibrasi (MFLT2), ditambahkan NaOH sampai pH dari medium fermentasinya 6, kemudian disterilkan dengan cara diautoklaf dengan suhu 100°C selama 5 menit, kemudian didinginkan dengan cara dibiarkan di suhu ruang (Pawignya,2011).

### Sumber Isolat

Isolat bakteri *Bacillus cereus* berasal dari Laboratorium Biokimia Universitas Sumatra Utara.

### **Identifikasi Bakteri *Bacillus cereus***

Untuk memastikan bakteri uji yang digunakan, dilakukan identifikasi bakteri yaitu dengan pewarnaan Gram.

Kaca objek gelas dibersihkan, kemudian jarum ose dipijarkan, ditunggu hingga dingin, lalu bakteri diambil dari media dan diratakan diatas objek gelas kemudian dipijarkan hingga kering. Selanjutnya ditetesi dengan larutan kristal violet didiamkan selama 1 menit, lalu objek gelas diberikan akuadest mengalir dan dikeringkan. Lalu ditetesi dengan larutan lugol dan didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan alkohol asam dan dibilas dengan akuades kemudian ditetesi dengan safranin didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan akuades dan dikeringkan diatas api Bunsen dan diamati dibawah mikroskop.

Bakteri yang telah diwarnai yang dapat menahan zat warna ungu dari kristal violet setelah didekolorisasi dengan alkohol asam dan tetap mempertahankan warna ungu ketika diwarnai dengan zat warna safarin, maka bakteri tersebut adalah bakteri gram positif. Sebaliknya bakteri yang tidak dapat menahan zat warna ungu setelah didekolorisasi dengan alkohol asam akan kembali tidak berwarna dan ketika diwarnai dengan zat warna safranin akan mengikat warna safranin, sehingga diperoleh hasil bewarna merah, maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif (Irianto dan Ijah, 2011).

### **Regenerasi Bakteri**

Diambil satu koloni bakteri *Bacillus cereus* dengan menggunakan jarum ose steril, lalu ditanamkan pada media Nutrient Agar miring dengan cara menggores, setelah itu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Silaban, 2009).

### **Penyiapan Larutan NaCl 0,9%**

Komposisi: Natrium Klorida 9,0 g

Air Suling hingga 1000 ml

Cara Pembuatan:

Sebanyak 9 g NaCl ditimbang dan dilarutkan dengan air suling steril, dimasukkan dalam labu tentukur 1000 ml sampai larut sempurna, ditambahkan air suling steril sampai garis tanda, dimasukkan dalam Erlenmeyer steril yang tertutup kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Ditjen POM, 1995).

### **Penyiapan Suspensi Standar Mc. Farland 0,5**

Suspensi standar Mc. Farland 0,5 menunjukkan konsentrasi kekeruhan suspensi bakteri sama dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL.

Komposisi: Larutan asam sulfat 1% 9,95ml

Larutan barium klorida 1,1% 0,05 ml

Cara pembuatan:

Kedua larutan dicampurkan dalam labu tentu ukur 100 ml, steril, dikocok sampai homogen dan ditutup. Apabila kekeruhan hasil suspensi bakteri sama dengan kekeruhan suspensi standar Mc. Farland maka konsentrasi bakteri  $10^8$  CFU/ml.

Tujuan dari pembuatan suspensi larutan Mc. Farland adalah sebagai referensi untuk menyesuaikan kekeruhan bakteri suspensi sehingga jumlah bakteri dalam kisaran yang diberikan untuk membakukan mikroba pengujian (fitri, 2015).

### **Pembuatan Suspensi Bakteri**

Untuk membuat suspensi bakteri *Bacillus cereus* yaitu dengan cara biakan *Bacillus cereus* diambil dengan kawat ose steril kemudian disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9%. Selanjutnya dibandingkan dengan standart kekeruhan larutan Mc. Farland 0,5 (Andarini, 2019).

### **Pembuatan Starter**

Pembuatan starter dilakukan dengan cara diambil 10% dari 200 ml media fermentasi yang steril yaitu sebanyak 20ml, dimasukkan kedalam erlenmeyer yang pertama dan diambil 20ml lagi untuk erlenmeyer yang kedua. Kemudian ditambahkan 1 ose isolat mikroba *Bacillus cereus* kedalam masing-masing erlenmeyer. Diinkubasi selama 2 hari pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (Pawignya,2011).

### **Proses Fermentasi**

Proses fermentasi dilakukan dengan cara medium fermentasi yang terdapat dalam erlenmeyer pertama dan sudah ditambahkan nutrisi, ditambahkan starter yang sudah diinkubasi selama 2 hari, ditutup rapat, kemudian diinkubasi selama 6 hari dan dianalisis kadar protein, berat kering sel, kadar glukosa, pH dan suhu pada fermentasi hari ke-0,2,4, dan 6 (pawignya, 2011).

Proses fermentasi dilakukan dengan cara medium fermentasi yang terdapat dalam erlenmeyer ke-dua dan sudah ditambahkan nutrisi, ditambahkan starter yang sudah diinkubasi selama 2 hari, ditutup rapat, kemudian diinkubasi selama 6 hari dan dianalisis kadar protein, berat kering sel, kadar glukosa, pH dan suhu pada fermentasi hari ke-0,2,4, dan 6 (pawignya, 2011).

### **Analisis Kadar Protein**

Media fermentasi ditimbang sebanyak 1g kemudian dimasukkan kedalam beaker labu kjeldahl lalu ditambahkan selenium sebanyak 0,2 g dan  $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{P})$  98% sebanyak 15 ml. setelah itu dipanaskan diatas kjeldahl apparatus sehingga diperoleh larutan berwarna bening kehijauan. Larutan tersebut kemudian didinginkan dan dimasukkan kedalam labu alas. Lalu ditambahkan

aquadest sebanyak 100 ml dan NaOH 30% sampai pH menjadi basa. Kemudian didestilasi selama beberapa menit dan destilat yang diperoleh ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 3% dan indikator tashiro sehingga diperoleh larutan berwarna hijau. Larutan hijau yang diperoleh kemudian dititrasi dengan larutan standar HCl<sub>(aq)</sub> 0,1 N hingga berubah warna menjadi larutan ungu. Kemudian dihitung kadar proteinnya (Maryana, 2016).

Kadar protein akan dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\%P = \frac{(Vs-VB) \times NHCl \times BM \text{ Nitrogen} \times fk}{m \times 1000} \times 100\% \text{ (Maryana,2016)}.$$

### **Analisis Berat Kering Sel**

Cawan porselein dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Cawan porselein didinginkan dalam desikator selama 30 menit, kemudian ditimbang untuk mengetahui beratnya. Pengukuran biomassa. Perhitungan biomassa bakteri dilakukan dengan menentukan berat kering sel bakteri. Dimasukkan 1 ml bakteri yang diambil dari media fermentasi ke dalam mikrotube kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 5 menit. Isolat yang disentrifugasi akan menghasilkan supernatan dan endapan sel bakteri. Kemudian endapan sel bakteri tersebut di masukkan kedalam cawan porselein kemudian di oven dengan suhu 100°C selama 30 menit kemudian didinginkan disuhu ruang dan ditimbang berat keringnya. Berat kering yang didapatkan dikurang dengan berat kosong cawan porselein maka didapat biomassa bakteri tersebut (Nasution et al, 2021).

### **Analisis Kadar Glukosa**

Kadar glukosa limbah cair tahu yang terdapat pada medium fermentasi diukur dengan alat refraktometer. Dipipet medium fermentasi dan diteteskan ke alat refraktometer sampai lensa kacanya tertutup kemudian dicatat kadar glukosanya (Jasman *et al*, 2021).

### **Analisis pH dan Suhu**

Analisis pH dan Suhu dilakukan menggunakan alat pH meter dengan cara dimasukkan pH meter kedalam medium fermentasi dan dicatat hasilnya.

### **Analisis Data**

Data yang diamati meliputi kadar protein produk mikroba *Bacillus cereus* dan berat kering sel pada media kultur dan media pemeliharaan lingkungan dilakukan dengan analisis sidik ragam (ANOVA), setelah itu dilakukan uji normalitas sebaran dan homogenitas ragam error. Jika diperoleh perbedaan 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).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Identifikasi Bakteri *Bacillus cereus*

Hasil identifikasi bakteri *Bacillus cereus* secara mikroskopis menunjukkan bahwa sel mikroba berbentuk batang pendek biasanya dalam bentuk rantai panjang. Umumnya mempunyai ukuran lebar  $1,0 \mu\text{m} - 1,2 \mu\text{m}$  dan panjang  $3 \mu\text{m} - 5 \mu\text{m}$ , *Bacillus cereus* merupakan golongan bakteri gram positif (bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram), bersifat aerob fakultatif (dapat menggunakan oksigen tetapi dapat juga menghasilkan energi secara aerobik), dan dapat membentuk spora (endospora) (Jannah, 2016).

### Hasil Analisis Kadar Protein

Hasil Analisis berat kering sel dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.2

**Tabel 2.** Hasil Analisis Kadar Protein

Medium Fermentasi	Kadar Protein %			
	Fermentasi Hari ke-			
	H0	H2	H4	H6
MFLT1	0,50	0,21	0,46	0,38
MFLT 2	0,30	0,29	0,73	0,37

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

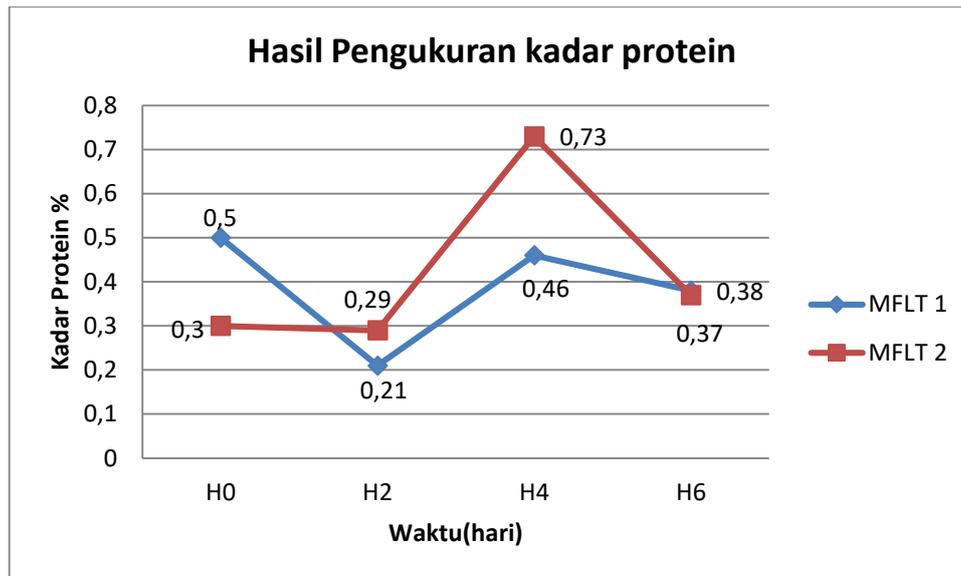
MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6



**Gambar 1.** Grafik hubungan waktu fermentasi terhadap kadar protein.

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6

Hasil kadar protein pada waktu fermentasi pada hari ke-0 pada MFLT1 sebanyak 0,50% sedangkan pada MFLT2 diperoleh kadar protein sebanyak 0,30%. Pada waktu fermentasi hari ke-2 kadar protein mengalami penurunan baik pada MFLT1 maupun pada MFLT2 diperoleh kadar protein sebanyak 0,21% dan 0,29% hal ini dikarenakan pertumbuhan *Bacillus cereus* mengalami fase lag, yang dimana pada fase ini *Bacillus cereus* menyesuaikan sel-sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat. Pada waktu fermentasi hari ke-4 kadar protein mengalami peningkatan baik MFLT1 maupun pada MFLT2 diperoleh kadar protein sebanyak 0,46% dan 0,73%. Pada waktu fermentasi hari ke-6 kadar protein yakni 0,38% dan 0,37% pertumbuhan *Bacillus cereus* memasuki fase kematian dipercepat, jumlah sel-sel yang mati lebih banyak dari pada sel-sel yang masih hidup.

Kadar protein sel tertinggi diperoleh dari MFLT2 pada waktu fermentasi hari ke-4 yaitu sebesar 0,73%. Hal ini berhubungan dengan ketersediaan nutrisi dalam medium. Menurut Fardiaz (1992), 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. Menurut Kuswardani dan Wijajaseputra (1998) waktu

pebiakan yang terlalu singkat akan menghasilkan PST dalam jumlah rendah karena biokonversi komponen medium belum optimal. Sedangkan waktu pebiakan yang terlalu lama akan menyebabkan penurunan protein yang terakumulasi dalam PST akibat autolisis untuk memenuhi kebutuhannya sehubungan dengan ketersediaan nutrient dalam medium yang semakin tidak mencukupi.

### Hasil Analisis Berat Kering Sel

Hasil analisis berat kering sel dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.3.

**Tabel 3.** Analisis Berat Kering Sel

Medium fermentasi	Berat Kering Sel (g)			
	Fermentasi Hari ke-			
	H0	H2	H4	H6
MFLT 1	0,265	0,176	0,286	0,173
MFLT 2	0,175	0,162	0,253	0,196

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

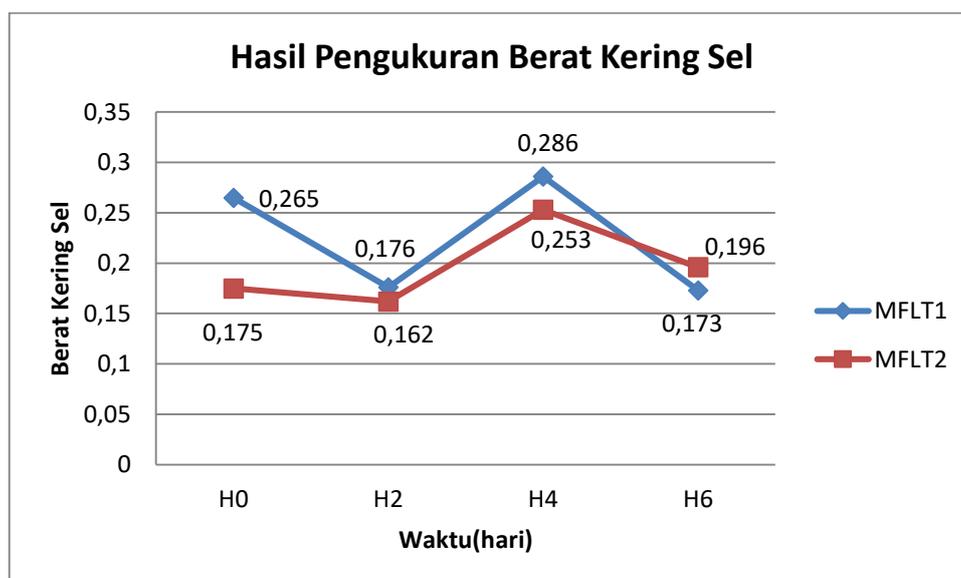
MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6



**Gambar 2.** Grafik hubungan waktu fermentasi terhadap Berat kering sel.

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6

Hasil berat kering sel tertinggi terdapat pada perlakuan MFLT2 pada waktu fermentasi hari ke-4 sedangkan pada perlakuan MFLT1 didapat hasil berat kering sel tertinggi pada waktu fermentasi hari ke-4 juga. Berat kering sel dipengaruhi oleh medium pertumbuhan dan dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 2 berat kering sel optimum didapat pada hari ke 4 pada perlakuan MFLT2, sedangkan berat kering sel optimum pada perlakuan MFLT1 didapat pada hari ke-4.

Pengaruh perbedaan penambahan nutrisi dan lama fermentasi berpengaruh secara signifikan terhadap berat kering sel yang dihasilkan dalam proses fermentasi seperti terlihat pada Tabel 3 dan Gambar 2 Berat kering sel dalam medium limbah cair tahu dengan variasi nutrisi antara MFLT1 dan MFLT2 tidak berbeda signifikan meskipun terjadi kenaikan berat kering sel pada MFLT1 dan penurunan pada MFLT2.

Selain pengaruh perbedaan penambahan nutrisi dalam medium, waktu inkubasi juga berpengaruh terhadap berat kering sel mikroba. Waktu inkubasi hari ke-0, hari ke-2, hari ke-4, dan hari ke-6 berbeda signifikan terhadap berat kering sel. Semakin lama waktu inkubasi, berat kering sel yang dihasilkan meningkat sampai inkubasi hari ke-4, namun memasuki hari ke-6 berat kering sel menurun. Berat kering sel yang dihasilkan selama proses fermentasi ditentukan oleh jumlah sel yang tumbuh. Semakin banyak jumlah sel yang dihasilkan, maka berat kering sel meningkat. Dalam produksi Protein Sel Tunggal ini, inkubasi hari ke-4 dapat mengoptimalkan pertumbuhan sel mikroba karena sel membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik yang ditandai dengan jumlah sel hidup lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sel yang mati, sehingga meningkatkan hasil berat kering sel (Masithoh,2012).

## Hasil Analisis Kadar Glukosa

Hasil analisis kadar glukosa dapat dilihat dari Tabel 4 dan Gambar 3.

**Tabel 4.** Hasil analisis Kadar Glukosa

Medium Fermentasi	Glukosa %			
	Fermentasi Hari ke-			
	H0	H2	H4	H6
MFLT 1	1,3349	1,3347	1,3342	1,3339
MFLT 2	1,3348	1,3342	1,3339	1,3337

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

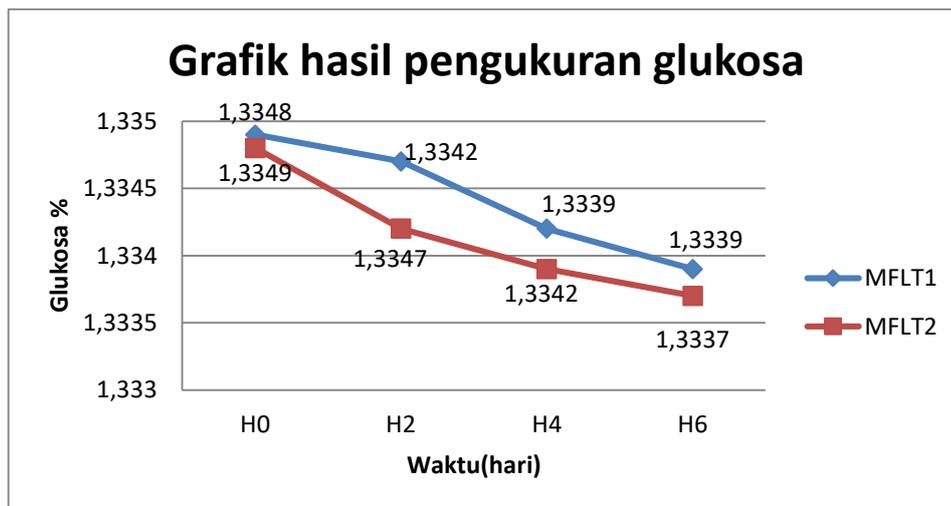
MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6



**Gambar 3.** Grafik hubungan waktu fermentasi terhadap kadar glukosa

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6

Hasil pengukuran glukosa tertinggi di dapat pada waktu fermentasi hari ke-2 menunjukkan kadar glukosa tertinggi pada perlakuan MFLT1 yaitu sebanyak 1,3347%. Sedangkan, pada perlakuan MFLT2 didapat kadar glukosa tertinggi pada hari ke-2 yaitu sebanyak 1,3342% dan untuk fermentasi hari ke-4, dan ke-6 semakin menurun ini diakibatkan semakin lama waktu fermentasi kadar glukosa semakin berkurang diakibatkan pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* semakin meningkat.

### Hasil Analisis pH

Hasil Analisis pH dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.5.

**Tabel 5.** Hasil Analisis pH

Medium Fermentasi	pH			
	Fermentasi Hari ke-			
	H0	H2	H4	H6
MFLT 1	6.0	4.2	3.9	4.2
MFLT 2	5.7	4.2	3.9	4.3

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

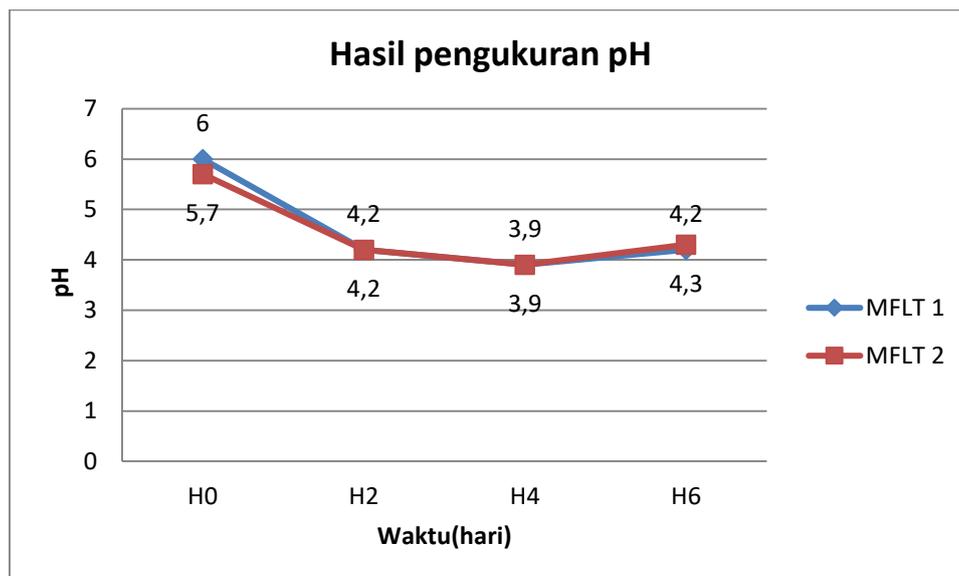
MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6



**Gambar 4.** Grafik hubungan waktu fermentasi terhadap pH.

Keterangan :

- MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula  
MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula  
H0 : Fermentasi hari ke-0  
H2 : Fermentasi hari ke-2  
H4 : Fermentasi hari ke-4  
H6 : Fermentasi hari ke-6

Hasil analisis pH pada fermentasi *Bacillus cereus* dalam medium limbah cair tahu dengan variasi penambahan nutrisi berlangsung selama 6 hari. Selama fermentasi terjadi perubahan pH medium karena pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi. Penambahan variasi nutrisi, lama inkubasi berbeda signifikan terhadap perubahan pH medium. Dapat dilihat pada Tabel 5 dan gambar Grafik 4 bahwa semakin rendah pH nya semakin tinggi kadar proteinnya.

#### Hasil Analisis Suhu

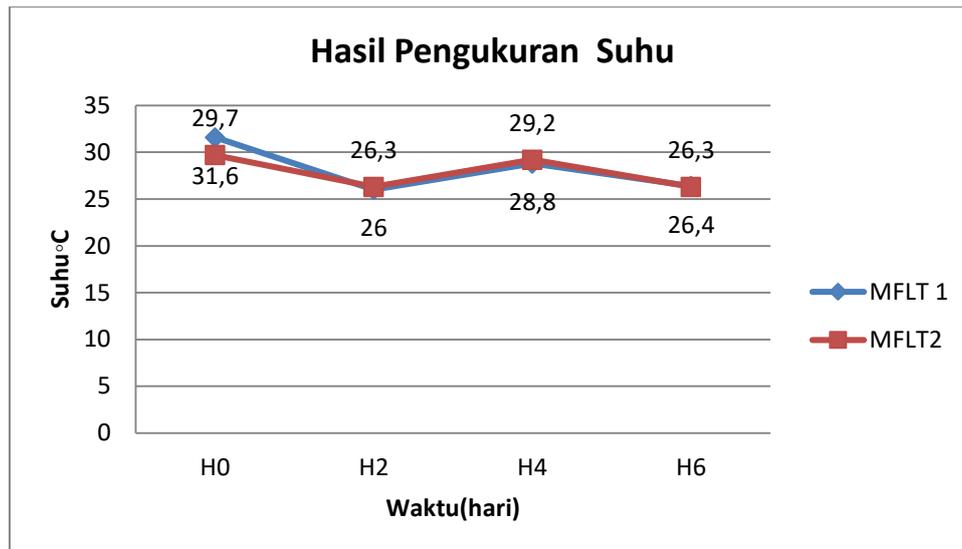
Hasil Analisis suhu dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 5.

**Tabel 6.** Hasil analisis suhu

Medium Fermentasi	SUHU <sup>o</sup> C			
	Fermentasi Hari ke-			
	H0	H2	H4	H6
MFLT 1	31.6 <sup>o</sup> C	26.0 <sup>o</sup> C	28.8 <sup>o</sup> C	26.4 <sup>o</sup> C
MFLT 2	29.7 <sup>o</sup> C	26.3 <sup>o</sup> C	29.2 <sup>o</sup> C	26.3 <sup>o</sup> C

Keterangan :

- MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula  
MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula  
H0 : Fermentasi hari ke-0  
H2 : Fermentasi hari ke-2  
H4 : Fermentasi hari ke-4  
H6 : Fermentasi hari ke-6



**Gambar 5.** Grafik hubungan waktu fermentasi terhadap Suhu

Keterangan :

MFLT 1 : Medium Fermentasi Limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + Gula

MFLT 2 : Medium Fermentasi limbah Cair Tahu +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + Gula

H0 : Fermentasi hari ke-0

H2 : Fermentasi hari ke-2

H4 : Fermentasi hari ke-4

H6 : Fermentasi hari ke-6

Suhu sangat mempengaruhi kecepatan pertumbuhan mikrobia, kecepatan sintesis enzim dan kecepatan inaktivasi enzim (Knob & Carmona, 2008). Setiap spesies mempunyai rentang suhu yang ditentukan oleh sensitivitas system enzim terhadap panas. Setiap mikrobia termasuk bakteri mempunyai suhu optimum, maksimum dan minimum untuk pertumbuhannya. Suhu pertumbuhan maksimum yang dapat menunjang pertumbuhan *Bacillus cereus* yaitu berkisar antara 37°C-48°C dan minimum 5-20°C, suhu pertumbuhan optimum 30°C. Pada Tabel 4.5 menunjukkan bahwa hasil pengukuran suhu pada MFLT1 dan MFLT2 mengalami peningkatan suhu pada waktu fermentasi hari ke-4 dan menurun kembali pada waktu fermentasi hari ke-6. Dimana laju pertumbuhannya meningkat seiring dengan peningkatan suhu. Dapat dilihat pada tabel 4.5 dan gambar 4.6 bahwa *Bacillus cereus* dapat tumbuh dengan baik pada suhu 28,8°C dan 29,2°C karna pada suhu tersebut didapatkan hasil kadar protein yang tinggi.

### Hasil Analisis Data

Hasil uji normalitas dari kadar protein, diketahui nilai p (Sig.) 0.243 > 0.05 maka  $H_0$  diterima data berdistribusi normal. Sehingga data dalam penelitian ini berasal dari populasi

dalam sebaran yang normal dan dapat dilakukan pengujian homogenitas varians data. Hasil uji homogenitas dari kadar protein, diketahui jika standar deviasi bernilai konstans, maka berdasarkan hasil tersebut, pengujian hipotesis penelitian tidak dapat dilanjutkan.

Hasil uji normalitas berat kering sel, diketahui nilai  $p$  (Sig.)  $0,278 > 0.05$  maka  $H_0$  diterima data berdistribusi normal. Sehingga data dalam penelitian ini berasal dari populasi dalam sebaran yang normal dan dapat dilakukan pengujian homogenitas varians data. Hasil uji homogenitas dari berat kering sel, diketahui jika standar deviasi bernilai konstans, maka berdasarkan hasil tersebut, pengujian hipotesis penelitian tidak dapat dilanjutkan.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

1. Dari hasil penelitian ini di dapat diketahui bahwa limbah cair tahu dapat menghasilkan protein sel tunggal dari kultur *Bacillus cereus*.
2. Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa terdapat perbedaan hasil produksi protein dengan penambahan nutrisi, dimana hasil kadar protein pada medium MFKN2 lebih tinggi dibandingkan kadar protein pada medium MFLT1.

### **Saran**

Disarankan pada peneliti selanjutnya untuk menguji lebih lanjut tentang limbah cair tahu untuk mengetahui apa saja kegunaannya selain dari memproduksi protein sel tunggal agar dapat menghindari pencemaran lingkungan akibat banyaknya limbah cair tahu yang terbuang setiap harinya.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Adisarwanto, T., (2014). Kedelai Tropika Produktivitas 3ton/ha. Jakarta. Penerbit Penebar Swadaya. Hal 25.
- Andarwulan, N., Kusnandar, F., dan Herawati. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat: Jakarta.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, S. Yasni dan S. Budiyanto. 1989. Petunjuk Praktikum Analisis Pangan. IPB Press, Bogor.
- AOAC International., (1999). Official Method of Analysis.
- Aris, S.B., Rudi., & Lasarido., (2021). Pengolahan Limbah Industri Tahu Menggunakan Berbagai Jenis Tanaman Dengan Metode Fitoremediasi. Kalimantan Timur. Program Studi Agroteknologi. Hal 258.
- Cahyadi, W., (2009). Kedelai Khasiat dan Teknologi. Jakarta. PT Bumi Aksara. Hal 4, 6, 58.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Firmanto, H.B. Ir., (2010). Praktis Bercocok Tanam Kedelai Secara Intensif. Bandung. Penerbit Angkasa. Hal 2-5.

- Haryono, B. S.T.P., & Kurniati, D., (2013). KEDELAI. Provinsi Sumatera Utara. PT.Trisula Adisakti
- Inuhan, B., Arreneuz, B., & Wibowo, A.M., (2016). Optimasi Produksi Protein Sel Tunggal (PST) Dari Bakteri Yang Terdapat Pada Gastrointestinal (GI) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Kembung (*Scomber canagorta*). Pontianak. Universitas Tanjungpura. Hal 24-25
- Irianto, H.E., & Muljannah, I.,(2011). Proses dan aplikasi nanopartikel kitosan sebagai penghantar obat. *Squalen*, 6(1), 1-8.
- Jannah, R., (2016). Pengaruh Aplikasi Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas Aeruginosa* Terhadap Produktivitas Tanaman Padi yang Terinfeksi Penyakit Blas Sebagai Referensi Mata Kuliah Mikrobiologi. Banda Aceh. Hal 16, 17, 18, 19.
- Jasman., & Ramadan, M.A.,(2021). Pengaruh Jenis Perlakuan Awal terhadap Konsentrasi Bioetanol Hasil Hidrolisis dan Fermentasi Tongkol Jagung menggunakan *Trichoderma reesei* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Nusa Tenggara Timur. Universitas Nusa Cendana. Hal 27
- Knob, A & Carmona, E.C., 2008. Xylanase production by *penicillium sclerotiorum* and its characterization. *World Applied Sciences journal* 4(2).277-283
- Kuswardani, I., & Wijajaseputra, A.I.,(1998). Produksi Protein Sel Tunggal *Phanerochaete chrysosporium* pada media limbah cair tahu yang diperkaya: kajian optimasi waktu panen. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi. 604-613.
- Manfaati, R., (2010). Kinetika dan Variable Optimum Fermentasi Asam Laktat dengan Media Campuran Tepung Tapioka dan Limbah Cair Tahu oleh *Rhizopus oryzae*. Semarang. Magister Teknik Kimia.
- Marian, E., & Tuhuteru S.,(2019). Pemanfaatan Limbah Cair Tahu Sebagai Pupuk Organik Cair Pada Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Sawi Putih. Papua. Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Petra Baliem Wamena. Hal 135-136.
- Maryana, L., Anam, S., & Nugrahani, W.A., (2016). Produksi Protein Sel Tunggal Dari Kultur *Rhizopus oryzae* Dengan Medium Limbah Cair Tahu. Palu. Universitas Tadulako. Hal 134.
- Muchtadi, D. 1989. Evaluasi Nilai Gizi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Nasution, N.M. Feliatra., & Effendi, I., 2021. Analisis Pertumbuhan Protein Sel Tunggal Kultur *Bacillus cereus* Dengan Media yang Berbeda. Riau. Universitas Riau. Hal 48.
- Nengsih A.I., Feliatra. Effendi I., (2020). *Growth of Bacteria Bacillus cereus in Liquid Mediums with Different Carbohydrate Sources*.Pekanbaru. Universitas Riau. Hal 68.
- Pagoray, H., Sulistyawati., & Fitriyani., (2021). Limbah Cair Industri Tahu dan Dampaknya Terhadap Kualitas Air dan Biota Perairan. Samarinda. Universitas Mulawarman.
- Pawignya, H., (2011). Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi. Yogyakarta. Fakultas Teknologi Industri. Hal 2-3
- Poedjiadi, Anna dan F. M. Titin Supriyanti. (2006). Dasar - Dasar Biokimia. Jakarta: UI-Press.
- Putra, H.M., Feliatra., & Effendi, I., (2021). *Optimization OF Bacillus cereus Growth In Media With Different Carbon Sources*. Riau. Universitas Riau. Hal 208-209.

- Putri, E., (2016). Kualitas Protein Susu Sapi Segar Berdasarkan Waktu Penyimpanan. Langsa. Universitas Cut Nyak Dhien Langsa. Hal 15
- Prabandari, E., (2001). Cara membuat tahu. Prov. Sumatera Utara. Jakarta. PT MUSI PERKASA UTAMA. Hal 42.
- Rahayu, & Nurwitri., (2012). Mikrobiologi Pangan. Bogor. PT.Penerbit IPB Press. Hal 74-75.
- Rahayu, D., (2019). Potensi Limbah Cair Tahu Sebagai Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus bulgaricus* dan *streptococcus thermophilus*. Yogyakarta. Hal 1 dan 2.
- Riadi, R. 2007. Teknologi Fermentasi. ISBN: 978-979-756-233-5. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Samsudin, W., Selomo, M., & Natsir, F.M., (2018). Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Menjadi Pupuk Organik Cair Dengan Penambahan Efektive Mikroorganisme-4 (EM-4). Maluku. Universitas Hasanuddin. Hal 2
- Sari, A.E., Koerniasari., & Jauhari Al.S., (2016). Perbandingan Efektifitas Penurunan Kadar BOD Dan COD Pada Limbah Cair Tahu Industri Tahu Menggunakan Tanaman Kayu Apu (*Pistia stratiotes*) Dan Tanaman Eceng Gondok (*Eichornia crassipes Solms*). Hal 109.
- Siregar, A.D., Lahay, R.R., & Rahmawati N., (2017). Respons Pertumbuhan Dan Produksi Kedelai (*Glycine max* (L. Merrill) Terhadap Pemberian Biochar Sekam Padi Dan Pupuk P. Medan. USU. Hal 722-723.