

Pengkajian Nilai Gizi Hasil Fermentasi Mutan *Aspergillus niger* pada Substrat Bungkil Kelapa dan Bungkil Inti Sawit

Evaluate the effect of mutans *Aspergillus niger* to the nutritive value of fermentation at coconut meal and karnel palm meal

LAELA SARI¹, TRESNAWATI PURWADARIA²

¹Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong-Bogor 16911

²Balai Penelitian Ternak Ciawi PO Box 221 Bogor 16002

Diterima: 19 Pebruari 2004. Disetujui: 17 Mei 2004

ABSTRACT

Agricultural wastes, such as coconut meal and kernel palm meal can be used to fulfill the need of feed for ruminants or monogastrics. Fermentation technology using *Aspergillus niger* has been reported allow to increase their nutritive value. Isolation of the asporogenous strain which could spored at room temperature but could not spored at 37°C is expected to sole the fermentation of spores in the fermentation product. The spore formation of mutants at the fourth day incubation time (10%) was less than the wild type (100%). The variance analysis of protein content *in vitro* Dry Matter Digestibility (IVDMD) and *in vitro* Protein Digestibility (IVPD) showed that the kind of mutants were interacted with the incubation time ($P < 0,01$). The highest protein content of coconut meal was obtained from E27 mutant (33.0%), kernel palm meal was obtained from E14 mutant (31.4%) at the fourth day of incubation time. The highest IVDMD of coconut meal (62.1%), kernel palms meal (61.8%) at the fourth day incubation time and from all E27 mutant. The highest IVPD of coconut meal was obtained from E27 mutant (20.49%) at the fourth day incubation time, kernel palm meal was obtained from E27 mutant (18.66%) at the fourth days incubation time.

© 2004 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Keywords: mutant *Aspergillus niger*, coconut meal, kernel palm meal, fermentation.

PENDAHULUAN

Pakan ternak sebagai sarana produksi ternak dirasakan petani cukup mahal, hal ini disebabkan ketersediaan bahan pakan yang berkualitas seperti tepung ikan, jagung dan bungkil kedelai belum memadai dan sebagian besar masih diimpor. Sebagai gambaran, pada tahun 1994 Indonesia mengimpor tepung ikan, jagung dan bungkil kedelai masing-masing sebanyak 227.213 ton, 1.109.253 ton dan 450.340 ton. Di lain pihak, berbagai limbah industri yang mungkin dapat digunakan sebagai bahan pakan ternak seperti bungkil kelapa dan bungkil inti sawit cukup banyak diproduksi di Indonesia (Sinurat dkk., 1998a,b; Ketaren dkk., 1999). Oleh karena itu perlu diteliti penggunaan bahan lain seperti bungkil kelapa dan bungkil inti sawit. Bahan tersebut merupakan bahan pakan yang murah, bernilai gizi tinggi, tidak bersaing dengan kebutuhan manusia dan dapat

diproduksi tinggi dengan biaya serendah-rendahnya.

Bungkil kelapa merupakan hasil dari ikutan pembuatan minyak kelapa, bungkil inti sawit merupakan hasil ikutan industri minyak sawit. Kedua bahan tersebut mempunyai faktor pembatas yaitu kandungan serat kasar yang cukup tinggi dan daya cernanya rendah. Daya cernanya berkurang dikarenakan proses pelumatan serat kasar memerlukan banyak tenaga dan enzim (Lubis, 1963), sehingga perlu dilakukan perlakuan pada kedua bahan tersebut agar kualitasnya lebih baik.

Menurut Kompiani *et al.* (1994) dan Sinurat dkk. (1998a,b), teknologi untuk meningkatkan mutu bahan pakan adalah dengan fermentasi. Secara umum semua produk akhir fermentasi biasanya mengandung senyawa yang lebih sederhana dan mudah dicerna daripada bahan asalnya sehingga dapat meningkatkan nilai gizinya (Purwadaria *et al.*, 1995; Sinurat dkk., 1996; Supriyati dkk., 1998). Fermentasi juga berfungsi sebagai salah satu cara pengolahan dalam rangka pengawetan bahan dan cara untuk mengurangi bahkan menghilangkan zat racun yang dikandung suatu bahan. Berbagai jenis mikroorganisme mempunyai kemampuan untuk meng-

▼ Alamat korespondensi:

Jl Raya Bogor KM 46 Cibinong 16911
Tel. +62-21-8754587; Fax. +62-21-8754588.
Email: laelasari@yahoo.com

konversikan pati menjadi protein dengan penambahan nitrogen anorganik ini melalui fermentasi.

Kapang yang sering digunakan dalam teknologi fermentasi antara lain *Aspergillus niger*. *A. niger* merupakan salah satu jenis *Aspergillus* yang tidak menghasilkan mikotoksin sehingga tidak membahayakan (Gray, 1970). Proses fermentasi menggunakan kapang, selain pembentukan miselium selalu diikuti oleh pembentukan spora yang berguna untuk pembuatan inokulum pada proses fermentasi. Inokulum yang berupa spora merupakan starter yang baik dalam fermentasi (Purwadaria *et al.*, 1994). Keberadaan spora dapat membuat turunnya daya cerna produk fermentasi dibandingkan dengan sel miselium dan merupakan bahan pencemar bagi kesehatan manusia, sehingga untuk alasan ini mutan yang hilang kemampuan berspora pada suhu tertentu akan mempunyai keuntungan.

Mutan asporogenous *A. niger* telah dikembangkan dengan teknik mutasi ultra violet (Glenn dan Roger, 1988). Mutasi adalah suatu perubahan yang terjadi pada bahan genetik yang menyebabkan perubahan ekspresinya. Proses pembentukan mutan disebut mutagenesis. Radiasi dengan penyinaran ultra violet sering digunakan dalam studi mutagenesis (Yusuf, 1988; Iskandar dkk, 1995).

Penelitian ini bertujuan untuk membentuk mutan asporogenous *A. niger* dengan menggunakan sinar ultra violet dan mengkaji nilai gizi produk fermentasi bungkil kelapa dan bungkil inti sawit.

BAHAN DAN METODE

Substrat dan mikroba

Substrat yang digunakan adalah bungkil kelapa dan bungkil inti sawit yang diperoleh dari toko makanan ternak di daerah Bogor. Sedangkan mikroba yang digunakan adalah *A. niger* koleksi Balitnak Ciawi dan mikroba mutan E14 dan E27 (hasil penelitian ini).

Teknik mutasi

Spora galur *A. niger* tipe liar pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dilarutkan dengan larutan fisiologis dengan pengenceran 10^{-6} . Setiap pengenceran dimasukkan ke dalam botol McCartney steril dan ditutup dengan rapat. Tempat untuk mutasi dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian disiapkan lampu Ultra Violet (Clemco 9015, 227 nm, 15 watt) dengan jarak 10 cm di atas cawan petri steril. Sampel dimasukkan ke dalam cawan petri tersebut dan disinari selama 2' (Glenn dan Roger, 1988) lalu dimasukkan ke dalam botol McCartney. Sebanyak 0,2 ml sampel ditumbuhkan pada cawan petri berisi media PDA lalu diinkubasikan selama 4 hari pada suhu 37°C. Setelah mutan yang tumbuh pada suhu 37°C diperoleh, maka dilakukan isolasi, dan ditumbuhkan pada media PDA dan diinkubasikan pada suhu kamar dan suhu 37°C. Selanjutnya dipilih

mutan yang dapat berspora pada suhu kamar namun tidak berspora pada suhu 37°C. Mutan tersebut ditumbuhkan pada cawan petri untuk dijadikan biakan inokulum.

Proses fermentasi substrat padat

Substrat berupa bungkil kelapa dan bungkil inti sawit masing-masing sebanyak 1 kg diberi larutan mineral (Modifikasi Ramos *et al.*, 1993) dan dilarutkan dalam 800 ml air, campuran diaduk sampai homogen dan dikukus selama 30 menit. Setelah dingin, substrat diberi galur inokulum yang berbeda (E14, E27 dan tipe liar sebagai kontrol) dan diaduk sampai homogen. Setelah itu diletakkan dalam baki plastik dengan ketebalan 3cm secara aerob, lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 4 hari.

Uji analisis kimia

Analisis kimia yang diuji menurut AOAC (1984) adalah kadar protein produk fermentasi dalam bentuk kadar protein sejati. Kadar protein sejati merupakan kadar protein kasar dengan kadar nitrogen terlarut (X 6,25). Selanjutnya diuji daya cerna bahan kering dan daya cerna protein sejati secara *in vitro* dan protein tercerna. Nilai protein tercerna merupakan perkalian daya cerna protein dengan kadar protein.

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktorial (Suntoyo, 1993) dengan 3 ulangan menggunakan 2 faktor yaitu faktor inokulum (3 isolat) dan faktor waktu inkubasi (0, 2, 3, dan 4 hari). Perlakuan yang diberikan meliputi masing-masing substrat percobaan yang difermentasikan dengan *A. niger* Balitnak tipe liar, E14 dan E27 (hasil penelitian ini), serta dipanen setelah 0, 2, 3 dan 4 hari.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan BNJ (Suntoyo, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil mutasi

Hasil mutasi dengan sinar UV menunjukkan adanya pembentukan mutan asporogenous *A. niger*. Koloni kapang yang berspora pada suhu 37°C merupakan koloni tipe liar, sedangkan koloni yang tidak berspora merupakan koloni mutan (Tabel 1.). Koloni kapang yang tidak berspora tersebut dipisahkan dan dibiakkan pada suhu kamar dan suhu 37°C. Kemudian kedua mutan tersebut diuji lebih lanjut dengan menanamnya pada suhu kamar dan 37°C selama empat generasi. Setelah empat kali dipindahkan ternyata mutan tersebut tetap stabil dan mempunyai karakteristik serta sifat yang sama seperti pada generasi pertama (dilihat dari pengamatan pembentukan spora secara visual Tabel 2.).

Tabel 1. Pembentukan spora isolat mutan dan tipe liar *A. niger* pada suhu inkubasi 28°C dan 37°C.

Proses Mutasi				
Jenis galur	Waktu penyinaran (menit)	Pengenceran spora	Suhu kamar	Suhu 37°C
TL	-	-	+++	++++
E14	2	10 ⁻⁶	+++	-,+
E27	2	10 ⁻⁶	+++	-,+

Keterangan: (-) = tidak berspora; (+) = berspora sedikit; (++) = Berspora sedang; (+++) = Berspora banyak; (++++)= Berspora sangat banyak/sangat rapat.

Tabel 2. Pertumbuhan *A. niger* TL, E14, dan E27 pada substrat bungkil kelapa dan bungkil inti sawit.

Substrat	Hari ke			
	1	2	3	4
Bungkil kelapa				
TL	-	-,+	++	###
E14	-	-,+	++	++#
E27	-	+	++	++#
Bungkil inti sawit				
TL	-	-,+	++	###
E14	-	-,+	++	++#
E27	-	+	++	++#

Keterangan: (-) = Tidak tampak pertumbuhan; (-,+) = hifa tumbuh menutupi substrat ± 50%; (+) = hifa tumbuh menutupi substrat ± 70%; (++) = hifa tumbuh menutupi substrat 100%; (++)# = hifa tumbuh ± 90%, dipinggir baki tumbuh spora ± 10%; (###) = tumbuh spora warna hitam.

Fermentasi substrat padat

Dilakukan analisis pada 0 (kontrol), 2, 3 dan 4 hari, namun tidak dilakukan pada waktu fermentasi satu hari, karena masa tersebut merupakan waktu adaptasi mikroba sehingga aktivitasnya belum optimal. Menurut Fardiaz (1988), fase adaptasi diperlukan mikroorganisme untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan di sekitarnya.

Tabel 3. dan Tabel 4. menunjukkan adanya interaksi antara jenis mutan dan waktu inkubasi ($P < 0,01$). Analisis ragam pengaruh jenis mutan terhadap kadar protein sejati berbeda nyata ($P < 0,01$). Dibandingkan dengan tipe liar, mutan E14 dan E27 tumbuh lebih baik karena pertumbuhan spora mutan tersebut lebih sedikit dari tipe liar.

Pada substrat bungkil kelapa dan bungkil inti sawit lamanya waktu fermentasi memperlihatkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan protein. Kenaikan kadar protein pada substrat fermentasi padat diakibatkan oleh penambahan protein yang diperoleh dari perubahan nitrogen inorganik menjadi protein sel selama pertumbuhan mikroba. Meningkatnya kadar protein ini ada hubungannya dengan pertumbuhan kapang *A. niger*. Makin subur pertumbuhan kapang makin tinggi pula kadar proteinnya, karena sebagian besar sel kapang merupakan protein.

Tabel 3. Nilai kadar protein, daya cerna bahan kering, daya cerna protein sejati, protein tercerna (%) *A. niger* tipe liar, mutan E14 dan E27 terhadap substrat bungkil kelapa.

Analisis (%)	Galur	Waktu inkubasi (hari)			
		0	2	3	4
Kadar protein	Tipe liar	22,3a	29,5bc	28,4b	30,3bc
	E14	21,9a	31,3c	32,2c	32,7c
	E27	20,7a	31,6c	32,2c	33,0c
Daya cerna bahan kering	Tipe liar	38,7a	44,1b	46,9c	40,0ab
	E14	41,0ab	46,1bc	52,6cd	56,3d
	E27	48,1bc	51,8c	58,2d	62,1e
Daya cerna protein sejati	Tipe liar	70,2b	75,5c	71,7bc	60,5a
	E14	63,0a	83,3d	81,3d	78,2c
	E27	84,6e	81,1d	75,1c	78,1c
Protein tercerna	Tipe liar	8.63	13.01	13.32	12.12
	E14	8.98	14.43	16.94	18.41
	E27	9.96	16.37	18.74	20.49

Keterangan: *Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Tabel 3 menunjukkan protein tertinggi pada bungkil kelapa diperoleh pada mutan E27 (33%) dengan waktu inkubasi 4 hari. Sedangkan protein tertinggi pada bungkil inti sawit diperoleh pada mutan E14 (31,4%) dengan waktu inkubasi 4 hari (Tabel 4). Pada tipe liar terjadi penurunan kadar protein pada hari ke empat, karena pertumbuhannya berbeda pada jenis mutan maka yang terjadi disini adalah aktivitas kapang yang satu lebih rendah dari yang lainnya. Aktivitas kapang memecah protein substrat sehingga laju pertumbuhannya menurun.

Metode yang digunakan untuk uji daya cerna bahan kering secara *in vitro* merupakan pendekatan untuk mengetahui gambaran pencernaan bahan kering produk (Saunders *et al.*, 1973). Analisis sidik ragam daya cerna bahan kering dan protein sejati *in vitro* menunjukkan interaksi antara jenis inokulum dan waktu inkubasi (Tabel 3. dan Tabel 4.). Nilai daya cerna bahan kering *in vitro* bungkil kelapa tertinggi diperoleh pada mutan E27 (62,1%) waktu inkubasi 4 hari (Tabel 3.). Sedangkan nilai daya cerna bahan kering *in vitro* bungkil inti sawit tertinggi diperoleh pada mutan E27 (61,8%) waktu inkubasi 4 hari (Tabel 4.). Kecuali pada tipe liar waktu inkubasi 4 hari menunjukkan nilai daya cerna bahan kering terendah karena selama proses fermentasi kapang memproduksi enzim pengurai serat kasar. Pada tipe liar terjadi penurunan daya cerna bahan kering karena terbentuk spora lebih banyak daripada isolat mutan. Dinding sel spora lebih banyak mengandung serat daripada miselium sehingga lebih sukar dicerna dan menurunnya daya cerna bahan kering.

Pada tipe liar terjadi pada hari ke empat penurunan daya cerna bahan kering, karena seratnya terurai sehingga daya cerna proteinnya meningkat. Pada tipe liar terjadi penurunan daya cerna terjadi karena terdapat spora yang tumbuh lebat pada hari ke empat, hal ini tersebut diduga karena spora meningkatkan kadar serat kasar bahan. Kadar serat

kasar yang tinggi mengakibatkan enzim pencernaan sukar menembus dinding sel dan menyebabkan zat gizi yang terdapat pada bahan tidak dapat dimanfaatkan sebaik mungkin. Pada mutan E14 dan E27 miseliumnya tumbuh subur namun hanya sedikit spora yang tumbuh pada hari ke empat, sehingga bahan tersebut lebih mudah dicerna dan dimanfaatkan.

Tabel 4. Nilai kadar protein, daya cerna bahan kering, daya cerna protein sejati, protein tercerna (%) *A. niger* tipe liar, mutan E14 dan E27 terhadap substrat bungkil inti sawit.

Analisis (%)	Galur	Waktu inkubasi (hari)			
		0	2	3	4
Kadar protein	Tipe liar	19,9a	26,3bc	28,3c	27,1bc
	E14	18,2a	29,7cd	25,6b	31,4d
	E27	19,1a	26,7bc	27,5bc	30,2cd
Daya cerna bahan kering	Tipe liar	33,0a	35,2ab	42,5c	32,4a
	E14	37,2b	42,6c	45,5cd	48,7d
	E27	40,8bc	47,7d	54,5c	61,8f
Daya cerna protein sejati	Tipe liar	72,5b	77,1c	76,0bc	79,2cd
	E14	65,7a	74,6bc	81,5d	77,3cd
	E27	69,2ab	81,6d	72,9bc	76,4bc
Protein tercerna	Tipe liar	6,57	9,26	12,03	8,78
	E14	6,77	12,65	11,65	15,29
	E27	7,79	12,74	14,99	18,66

Keterangan: *Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Nilai daya cerna protein sejati tertinggi pada bungkil kelapa dan bungkil inti sawit diperoleh pada mutan E27, walaupun demikian untuk nilai gizi produk fermentasi nilai daya cerna berhubungan dengan kadar protein produk atau nilai protein tercerna. Nilai protein tercerna tertinggi pada bungkil kelapa diperoleh pada mutan E27 (20,49%) waktu inkubasi 4 hari (Tabel 3). Sedangkan nilai protein tercerna tertinggi pada bungkil inti sawit pada E27 (18,66%) waktu inkubasi 4 hari atau kapang ini terbaik untuk nilai gizi protein (Tabel 4). Isolat mutan menunjukkan nilai gizi protein lebih baik daripada nilai tipe lainnya karena beberapa mutan hasil ultra violet menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim hidrolisis.

KESIMPULAN DAN SARAN

Mutan pada fermentasi bungkil kelapa dan bungkil inti sawit menunjukkan hifa tumbuh 90%, di tepi baki tumbuh spora 10%, sedangkan tipe liar menunjukkan hifa dan spora tumbuh subur pada substrat (100%). Waktu inkubasi mempengaruhi kadar protein. Kadar protein yang paling baik diperoleh pada substrat bungkil kelapa pada mutan E27 (33%) dengan waktu inkubasi 4 hari.

Kenaikan daya cerna bahan kering terjadi pada mutan E14 dan E27 sejalan dengan bertambahnya hari fermentasi. Daya cerna bahan kering yang paling baik diperoleh pada substrat bungkil kelapa pada mutan E27 (62,1%) dengan waktu inkubasi 4 hari.

Protein tercerna tertinggi pada bungkil kelapa terdapat pada mutan E27 (20,49%) dengan waktu inkubasi 4 hari. Protein tercerna tertinggi pada bungkil inti sawit terdapat pada mutan E27 (18,66%) dengan waktu inkubasi 4 hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Karya ilmiah ini merupakan bagian dari thesis sarjana penulis. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balitnak, Ciawi untuk fasilitas yang diberikan dalam penelitian ini, juga kepada Tuti Haryati, M.Sc. atas segala bantuan dalam pekerjaan.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington D.C.: AOAC.
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: Pasca Sarjana PAU-IPB & LSI IPB.
- Glenn, D.R. and R.E. Roger., 1988. A solid substrate fermentation process for animal feed product, studies on fungal strain improvement. *Australian Journal of Biotechnology* 2 (1): 50-54.
- Gray, W.D., 1970. *The Use of Fungi as Food and in Food Processing*. Ohio: CRC Press.
- Iskandar, Y.M., I.Z. Udin dan A.T. Karossi. 1995. Strain *Aspergillus oryzae* untuk meningkatkan produksi alfa amilase. *JKTI* 5 (1): 29-33.
- Ketaren, P.P., A.P. Sinurat, D. Zainuddin, T. Purwadaria, dan I.P. Kompiang. 1999. Bungkil inti sawit dan produk fermentasinya sebagai pakan ayam pedaging. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4 (2): 107-112.
- Kompiang, I.P., A.P. Sinurat, S. Kompiang, T. Purwadaria, and J. Darma. 1994. Nutrition value of protein enriched cassava: Cassapro. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 7 (2): 22-25.
- Lubis, D.A. 1963. *Ilmu Makanan Ternak*. Jakarta: PT Pembangunan.
- Purwadaria, T., T. Haryati, A.P. Sinurat, J. Darma, and T. Pasaribu. 1995. *In vitro* nutrient value of coconut meal fermented with *Aspergillus niger* NRRL 337 at different enzymatic incubation temperatures. *2nd Conference on Agricultural Biotechnology* Jakarta, 13-15 June 1995.
- Ramos, A.V., M. de la Torre, and C. Casas-Campillo. 1993. Solid Strate Fermentation of Cassava with *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710. In Ferranti, M.P., and A. Fiechter (eds.). *Production and Feeding of Single Cell Protein*. London: Applied Science Publisher.
- Saunders, R.M, M.A. Corner, A.N. Booth, E.M. Bickoff, and G.O. Kohler. 1973. Measurement of digestibility of alfaefa protein concentrates by *in vivo* and *in vitro* methods. *Journal of Nutrition* 103: 530-535.
- Sinurat, A.P., P. Setiadi, T. Purwadaria, A.R. Setioko, dan J. Darma. 1996. Nilai gizi bungkil kelapa yang difermentasi dan pemanfaatannya dalam ransum itik jantan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 1 (3): 161-168.
- Sinurat, A.P., T. Purwadaria, A. Habibie, T. Pasaribu, H. Hamid, J. Rosida, T. Haryati, dan I. Sutikno. 1998. Nilai gizi bungkil kelapa terfermentasi dalam ransum itik petelur dengan kadar fosfor yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 3 (1): 15-21.
- Sinurat, A.P., T. Purwadaria, J. Rosida, H. Surachman, H. Hamid, dan I.P. Kompiang. 1998. Pengaruh suhu ruang fermentasi dan kadar air substrat terhadap nilai gizi produk fermentasi lumpur sawit. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 3 (4): 225-229.
- Supriyati, T. Pasaribu, H. Hamid, dan A.P. Sinurat. 1998. Fermentasi bungkil inti sawit secara substrat padat dengan menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 3 (3): 165-170.
- Suntoyo, Y. 1993. *Percobaan, Perancangan, Analisis, dan Interpretasinya*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Yusuf, M. 1994. *Mutasi*. Bogor: Jurusan Biologi FMIPA IPB.