

PEMBUATAN INOKULUM KAPANG *Neurospora spp* UNTUK FERMENTASI BAHAN MAKANAN TERNAK*

Harnentis**, Neni Gusmanizar** dan Fitri Yeni***

Abstrak

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama untuk menentukan lama fermentasi substrat onggok dan dedak padi. Aktivitas enzim selulase maksimal yang dihasilkan digunakan sebagai dasar untuk fermentasi selanjutnya. Tahap kedua untuk menentukan aktivitas enzim selulase, kandungan karotenoid dan protein kasar inokulum pada substrat dengan imbalan C/N yang berbeda yaitu 20 : 1, 15 : 1, 10 : 1 dan 5 : 1. Pada tahap ketiga menggunakan substrat dengan imbalan C/N 20 : 1, untuk mengetahui pengaruh suhu pengeringan yang terdiri dari 80 °C, 70 °C, 60 °C, 50 °C, 40 °C dan panas matahari terhadap jumlah, persentase spora hidup dan kadar air inokulum.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi pada substrat onggok dan dedak padi 6 hari memberikan aktivitas enzim selulase maksimal yaitu 0.023 IU/ml. Lama fermentasi 6 hari digunakan untuk penelitian kedua. Imbalan C/N yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap aktivitas enzim selulase, kandungan karotenoid dan protein kasar inokulum. Aktivitas enzim selulase, kandungan karotenoid dan protein kasar inokulum pada substrat dengan imbalan C/N 20 : 1 lebih tinggi dari pada inokulum dengan imbalan C/N lainnya.

Suhu pengeringan inokulum memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap jumlah, persentase spora hidup dan kadar air inokulum. Jumlah dan persentase spora hidup inokulum pada suhu pengeringan 80 °C dan 70 °C sangat nyata ($P < 0.01$) lebih rendah dibanding suhu pengeringan 60 °C, 50 °C, 40 °C dan panas matahari. Hal ini disebabkan suhu yang tinggi dapat merusak sel sehingga sel pora mati.

Jumlah dan persentase spora hidup inokulum pada suhu pengeringan 60 °C (11.7×10^7 /gram, 78 %) dengan kadar air 12.85 % berbeda tidak nyata ($P > 0.01$) dengan inokulum yang dikeringkan dengan panas matahari (11.7×10^7 /gram, 78 %) dengan kadar air 12.17 %. Inokulum ini cukup bagus karena kadar air setelah pengeringan berada pada kisaran kadar air yang cocok untuk disimpan.

Jumlah dan persentase spora hidup inokulum pada suhu pengeringan 50 °C (13.65×10^7 /gram, 91 %) dengan kadar air 28.25 % berbeda tidak nyata ($P > 0.01$) dengan inokulum yang dikeringkan pada suhu 40 °C (14.4×10^7 /gram, 95 %) dengan kadar air 34.61 %. Walaupun jumlah dan persentase spora hidup inokulum ini lebih tinggi tetapi mungkin daya simpannya lebih pendek karena kadar air nya lebih tinggi.

* Dibiayai dengan dana Block Grant PT. Semen Padang. Kontrak No. 08/LP-UA/BLOCK GRANT/IV/2001

** Staf Pengajar Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Unand Padang

*** Mahasiswa Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Unand Padang

PENDAHULUAN

Semakin berkembangnya usaha peternakan dewasa ini menuntut ketersediaan pakan yang cukup baik dari segi kualitas maupun kuantitas. Pakan yang berkualitas sangat sulit didapatkan karena harganya yang relatif mahal. Upaya yang telah dilakukan adalah memanfaatkan limbah, baik limbah industri maupun limbah hasil pertanian. Namun yang menjadi kendala pada limbah ini adalah kandungan dan nilai gizinya yang rendah.

Untuk meningkatkan nilai gizi limbah tersebut, antara lain dengan perlakuan secara fisik, kimia dan biologis. Perlakuan biologis dengan cara fermentasi membutuhkan inokulum atau starter mikroba. Inokulum untuk fermentasi bahan makanan ternak belum tersedia seperti halnya ragi pada pembuatan tempe dan tape. Inokulum hanya dibuat setiap melakukan fermentasi pakan ternak sehingga akan membutuhkan waktu yang lama.

Salah satu mikroba yang dapat dijadikan inokulum adalah kapang *Neurospora spp* yang lebih dikenal dengan kapang oncom merah atau kapang nasi merah. Kapang ini lebih menguntungkan dibanding mikroba lain karena memiliki sifat mudah didapat, mudah tumbuh pada substrat, mempunyai waktu generasi yang pendek dan pertumbuhan miseliumnya sangat cepat (Frazier and Westhoff, 1978). Selama pertumbuhannya kapang ini menghasilkan enzim amilase, protease, lipase (Saono dan Budiman, 1981) dan enzim pemecah serat yaitu xilanase dan selulase (Irawadi, 1991) dan menghasilkan metabolit sekunder karotenoid (Pardede, 1994).

Untuk pertumbuhannya kapang ini memerlukan media yang cukup mengandung unsur karbon dan nitrogen. Onggok merupakan limbah industri tapioka yang dapat digunakan sebagai sumber karbon (C) karena mengandung karbohidrat 79.75 % (Sihombing, 1995). Dedak padi selain mengandung karbohidrat yang dapat digunakan sebagai sumber karbon juga kaya akan protein (N), vitamin dan mineral, sehingga cukup potensial untuk menyokong pertumbuhan kapang. Menurut Field (1992), umumnya kebutuhan kapang akan unsur C dan N adalah pada imbanan berkisar antara 5 : 1 sampai 20 : 1. Namun secara khusus kebutuhan kapang *Neurospora spp* akan unsur C dan N dengan sumber karbon onggok dan dedak belum diteliti.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan penelitian pembuatan inokulum *Neurospora spp* yang bertujuan untuk mendapatkan: (1) waktu fermentasi yang tepat, (2) imbanan C dan N yang tepat dari substrat campuran onggok dan dedak agar didapatkan inokulum yang mempunyai aktifitas enzim selulase dan kandungan karotenoid yang tinggi, (3) suhu pengeringan inokulum yang tepat dengan daya hidup sel yang tinggi. Manfaat dari penelitian ini adalah dihasilkannya inokulum siap pakai, dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama dan tersedia kapan saja akan melakukan fermentasi bahan makanan ternak.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri dari tiga percobaan, yaitu Penelitian pendahuluan penentuan lama fermentasi yang menghasilkan aktivitas enzim selulase maksimal dan diambil sebagai dasar penelitian selanjutnya. Substrat yang digunakan adalah campuran onggok dan dedak dengan perbandingan 80 % onggok dan 20 % dedak (Pardede, 1994). Inkubasi pada suhu ruang selama 1 – 8 hari, pengukuran aktivitas enzim selulase lakukan setiap hari dimulai pada hari ketiga.

Penelitian kedua yaitu penentuan aktivitas enzim selulase dan amilase, produksi karotenoid oleh kapang *Neurospora spp* pada substrat campuran onggok dan dedak dengan imbang C/N berbeda, Komposisi substrat campuran onggok dan dedak padi dibuat berdasarkan imbang jumlah karbon dan nitrogen (C/N). Perlakuan yang diuji adalah imbang C/N 5 : 1, 10 : 1, 15 : 1 dan 20 : 1. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Hasil yang berbeda diuji lebih lanjut dengan DMRT.

Penelitian ketiga yaitu pengeringan inokulum kapang *Neurospora spp* terhadap kemampuan hidup (viabilitas) spora. Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah inokulum dengan imbang C/N 20 : 1. Perlakuan yang diuji adalah pengeringan inokulum pada berbagai suhu, yaitu: suhu 80 °C, 70 °C, 60 °C, 50 °C, 40 °C dan panas matahari. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan, hasil yang berbeda diuji dengan DMRT.

Persiapan Bahan Penelitian

1. Persiapan kapang *Neurospora spp*

Kapang diperoleh dari oncom merah, spora kapang *Neurospora spp* yang berwarna kuning kemerahan yang tumbuh pada oncom merah digores pada medium PDA, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Kultur yang tumbuh merupakan kultur stock.

2. Persiapan Starter

Inokulum/suspensi spora untuk pembuatan starter diperoleh dengan menambahkan 5 ml aquades ke dalam kultur stock. Dengan menggunakan jarum osse, spora pada kultur stock dilepas kemudian dikocok sehingga diperoleh suspensi spora. Sebanyak 2 ml suspensi spora diinokulasikan ke medium starter.

Medium starter dibuat dari 10 gram beras dengan penambahan 10 ml larutan mineral seperti yang digunakan oleh Fachda (1989). Setelah diinokulasi dengan suspensi spora dari kultur stock, starter yang telah berumur 5 hari kemudian ditambahkan 100 ml aquades, kocok selama 1 menit dan didiamkan untuk memperoleh suspensi spora. Jumlah spora dalam suspensi dihitung dengan hemasitometer dan diinokulasikan ke substrat fermentasi.

3. Persiapan Substrat

Onggok diperoleh dari limbah pabrik tapioka PT Incasi Raya Situng Sumatera Barat. Onggok dikeringkan dengan oven pada suhu ± 40 °C, dihaluskan. Kemudian dianalisa kandungan karbon dan nitrogen onggok dan dedak (lihat Lampiran 1) untuk dijadikan substrat. Substrat siap digunakan sebagai medium fermentasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian I : Penentuan lama fermentasi dengan aktivitas enzim selulase maksimal

Penelitian ini dilakukan selama 8 hari untuk menentukan lama fermentasi dengan melihat pertumbuhan kapang, aktivitas enzim selulase dan amilase yang

dihasilkan. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan setiap hari. Aktivitas enzim selulase dan amilase dapat dilihat pada Table 1.

Tabel 1. Rataan aktivitas enzim selulase (fp-ase) inokulum *Neurospora spp* masing-masing perlakuan (IU/ml).

Lama fermentasi	Aktivitas enzim amilase (IU/ml)	Aktivitas enzim selulase (IU/ml)
3 hari	0.478	0.005
4 hari	0.404	0.007
5 hari	0.114	0.009
6 hari	0.633	0.009
7 hari	0.551	0.009
8 hari	0.053	0.008

Fermentasi dengan *Neurospora spp* pada substrat onggok dan dedak padi dihasilkan aktifitas enzim selulase dan amilase tertinggi pada hari ke - 6 fermentasi. Secara visual terlihat miselium kapang tumbuh sangat subur, rata dan berwarna oranye, warna oranye juga menunjukkan jumlah spora yang terbentuk lebih banyak. Tabel 1 menunjukkan bahwa kapang *Neurospora spp* dapat menghasilkan enzim dengan aktifitas enzim selulase dan amilase tertinggi pada fermentasi 6 hari dan dilihat secara visual pertumbuhan kapang pada hari keenam ini lebih bagus dan subur. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Pardede (1994) bahwa pertumbuhan miselium kapang *Neurospora sitophila* lebih banyak pada hari keenam fermentasi dengan menggunakan substrat campuran onggok dan dedak padi.

Penelitian II. Penentuan Aktivitas Enzim Selulase dan Produksi Karotenoid oleh kapang *Neurospora spp* pada Substrat Onggok dan Dedak dengan Imbangan C/N Berbeda.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Aktivitas Enzim Selulase

Rataan aktivitas enzim selulase inokulum *Neurospora spp* untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Table 2. Rataan Aktivitas Enzim Selulase (fp-ase) Inokulum *Neurospora spp* Masing -masing Perlakuan (IU/ml)

Imbangan C/N substrat	Aktivitas enzim selulase
5 : 1	0.012 ^a ± 0.001
10 : 1	0.017 ^a ± 0.001
15 : 1	0.020 ^b ± 0.001
20 : 1	0.023 ^a ± 0.001
SE*	0.0005

Pada Tabel 3 terlihat aktivitas enzim selulase berkisar antara 0.012 IU/ml sampai 0.023 IU/ml. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa imbangan C/N substrat berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap aktivitas enzim selulase.

Terjadi peningkatan aktifitas enzim selulase seiring dengan semakin tingginya imbangan C/N substrat. Tingginya aktivitas enzim selulase pada substrat

dengan imbang C/N 20 : 1 disebabkan oleh kondisi pertumbuhan kapang yang sesuai yaitu pH fermentasi 5,6 dan suhu yang dihasilkan adalah 30⁰ C, pH dan suhu yang dihasilkan berada pada kondisi pertumbuhan optimum kapang. Pada kondisi ini miselia kapang tumbuh sangat subur dan diikuti dengan aktivitas enzim yang tinggi. Menurut Sastramiharja (1984), kapang oncom merah tumbuh baik pada pH antara 5 sampai 7 dengan pH optimum 5,6. Sedangkan suhu untuk tumbuh baik kapang berkisar 25⁰ – 30⁰ C (Fardiaz, 1987). Pada pH dan suhu yang optimum tersebut memungkinkan perkembangan kapang akan meningkat dan mendorong aktivitas kapang untuk menghasilkan enzim selulase lebih besar.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Karotenoid

Rataan kandungan karotenoid inokulum *Neurospora spp* untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan Kandungan Karotenoid Inokulum *Neurospora spp* Masing- masing Perlakuan ($\mu\text{g}/\text{gram}$)

Imbangan C/N substrat	Rataan kandungan karotenoid
5 : 1	10.27 ^a $\pm$ 5.75
10 : 1	10.83 ^a $\pm$ 11.03
15 : 1	42.26 ^b $\pm$ 21.69
20 : 1	103.12 ^d $\pm$ 24
SE*	8.67

Berdasarkan pengamatan secara visual tampak bahwa intensitas warna yang dihasilkan pada substrat pada perlakuan imbangan C/N 20 : 1 sangat nyata ($P < 0.01$) lebih tinggi dibandingkan imbangan C/N 5 : 1, 10:1, dan 15:1. Hasil yang diperoleh ini berkaitan dengan pertumbuhan miselia kapang yang subur dan merata, karena ketersediaan nutrisi yang cukup dan berimbang.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Kandungan Protein

Rataan kandungan protein inokulum *Neurospora spp* untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Table 4.

Tabel 4. Rataan Kandungan Protein Kasar Inokulum *Neurospora spp* Masing- masing Perlakuan (% BK)

Imbangan C/N substrat	Rataan kandungan protein
5 : 1	46.08 ^a $\pm$ 4.05
10 : 1	21.77 ^b $\pm$ 4.33
15 : 1	23.87 ^b $\pm$ 1.39
20 : 1	23.97 ^b $\pm$ 1.45
SE*	1.57

Pada Table diatas terlihat bahwa imbangan C/N substrat yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap kandungan protein kasar inokulum. Kandungan protein inokulum pada imbangan C/N 10 : 1, 15 : 1 dan 20 : 1 berbeda tidak nyata, tetapi sangat nyata ($P < 0.01$) lebih rendah dari inokulum

dengan imbang C/N substrat 5 : 1. Namun pertumbuhan kapang lebih bagus pada substrat dengan imbang C/N 20 : 1

Walaupun kandungan protein tinggi pada inokulum dengan imbang C/N substrat 5 : 1 namun pertumbuhan miselium kapang sangat sedikit, hal ini disebabkan pada substrat ini lebih banyak penambahan urea sehingga pH substrat tinggi (8.3). Kondisi ini menghambat pertumbuhan kapang.

Penelitian III. Pengaruh Pengeringan Inokulum *Neurospora spp* Terhadap Kemampuan Hidup (Viabilitas) Spora

Pengaruh Pengeringan Terhadap Jumlah dan Persentase Spora yang Hidup dan Kadar Air Inokulum

Rataan jumlah dan Persentase spora inokulum yang hidup dan kadar air setelah dikeringkan pada suhu yang berbeda disajikan pada Table 5.

Tabel 5. Jumlah dan Persentase Spora Inokulum yang Hidup (10^7 /gram) dan Kadar Air Inokulum

Suhu pengeringan (°C)	Jumlah spora hidup	Persentase Spora hidup	Kadar air (%)
80	0.7 ^d	5 ^d	14.64 ^b
70	2.6 ^c	17 ^c	15.39 ^b
60	11.7 ^b	78 ^b	12.85 ^b
50	13.65 ^a	91 ^a	28.25 ^a
40	14.4 ^a	95 ^a	34.61 ^a
Panas matahari	11.7 ^b	78 ^b	12.17 ^b
SE*	0.29		4.49

Keterangan: Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$)

Dari tabel diatas terlihat bahwa perbedaan suhu pengeringan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap jumlah dan persentase spora yang hidup dan kadar air inokulum. Semakin tinggi suhu pengeringan maka jumlah, persentase spora hidup dan kadar air inokulum semakin rendah. Jumlah dan persentase spora yang hidup pada pengeringan suhu 50 °C dan 40 °C sangat nyata lebih tinggi dari pada suhu pengeringan lainnya. Jumlah dan persentase spora pada suhu pengeringan 60 °C berbeda tidak nyata dengan jumlah dan persentase spora pada suhu pengeringan panas matahari.

Pada suhu pengeringan yang lebih tinggi (80 °C dan 70 °C) jumlah dan persentase spora yang hidup sangat sedikit. Hal ini disebabkan suhu yang tinggi dapat mematikan sel-sel miselium kapang dan spora sehingga menjadi kering. Menurut Shurtleff dan Aoyagi (1979), kapang termasuk golongan mikroba mesofil yang dapat tumbuh pada suhu 20- 45 °C, sedangkan suhu optimum untuk pertumbuhan kapang berkisar antara 25 -30 °C atau lebih (Frazier dan Westhoff, 1979). Jumlah dan persentase spora inokulum yang hidup tertinggi terdapat pada pengeringan 50 °C dan 40 °C dan diikuti

oleh kadar air inokulum yang tinggi pula (28.15 – 34.61 %). Sedangkan inokulum dengan kadar air 12.17 – 12.85 % mempunyai jumlah spora hidup 11.7×10^7 /gram.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa substrat dengan imbalanced C/N 20 : 1 yang difermentasi selama 6 hari merupakan inokulum terbaik dengan aktivitas enzim selulase 0.023 IU/ml, kandungan karotenoid 103.12 µg/gr dan protein kasar 23.97 %. Jumlah dan persentase spora inokulum hidup tertinggi 13.65×10^7 – 14.4×10^7 /gr dengan kadar air 28.25 – 34.61 % setelah mengalami pengeringan pada suhu 50 dan 40 °C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada penyandang dana Block Grant PT. Semen Padang dan Lembaga Penelitian Unand yang telah membiayai penelitian ini, semoga penelitian ini ada manfaatnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, G.J. and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. John Wiley and Sons. New York.
- Fachda, F. 1989. Pemanfaatan Onggok dan Dedak Padi untuk Produksi Angkak oleh *Monascus purpureus*. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian – IPB, Bogor.
- Fardiaz, D. 1992. Mikrobiologi Pangan. Penerbit PT. Gramedia Jakarta.
- Frazier, W. C. and Westhoff, D. C. 1978. Food Microbiology, 3rd ed. Mc Graw-Hill, Inc. New York.
- Grace, M.R. 1977. Cassava Processing. FAO, Rome.
- Gunawan, C. 1975. Percobaan Membuat Inokulum Untuk Tempe dan Oncom. Ceramah Ilmiah LKN-LIPI. Bandung.
- Houston, C.W. 1963. Investigation of tempeh and Indonesian food. Development Indonesia Microbiology, 4 : 275 – 278.
- Irawadi, T.T. 1991. Produksi Enzim Ekstraseluler (selulase dan amilase) dari *Neurospora sitophila* pada Substrat Limbah Padat Kelapa Sawit. Disertasi FPS-IPB. Bogor.
- Litchfield, J.H. 1992. Single Cell Protein. Dalam Encyclopedia of Microbiology, Vol. 4. Academic Press. New York.

- Mappiratu, 1990. Produksi β - Karoten pada Limbah Cair Tapioka dengan Kapang Oncom Merah. Thesis Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- National Research Council, 1984. Nutrient Requirement of Poultry. National Academy of Science. Washington D.C.
- Pardede, H.T. 1994. Pemanfaatan Ampas tapioka, Ampas Tahu dan Dedak padi untuk Memproduksi Pigmen Karotenoid dari *Neurospora sitophila* dengan Sistem Fermentasi Padat. Skripsi Sarjana IPB Bogor
- Presscott, S. C. and C. E. Dunn. 1982. Industrial Microbiology. The Avi Publ. Co., Inc. Westport, Connecticut.
- Rahman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. PAU Pangan Gizi, IPB Bogor.
- Saono, S. dan W. Budiman. 1981. Penggunaan Beberapa Jenis Kacang Untuk Pembuatan Oncom. Bogor.
- Satiawiharja, B. 1994. Fermentasi Media Padat dan Pemanfaatannya. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Republik Indonesia.
- Shurtleff, W. and A. Aoyagi. 1979. The Book of Tempeh. A Super soy Food from Indonesia. Harper and Row, New York.
- Sihombing, S.H. 1995. Produksi Karotenoid Pada Limbah Cair Tahu, Air Kelapa dan Onggok dengan Kapang *Neurospora sp.* Skripsi FATETA IPB. Bogor.
- Sundhagul, M. 1972. Feasibility Study on Tapioca Waste Recovery In : W.R. Stanton. Waste Recovery by Microorganisme. The Ministry of Education Malaysia. Kuala Lumpur.
- Syamsiman, 1982. Pengolahan Tepung tapioka di daerah Bogor. Laporan Praktek Lapangan. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Van Veen, A.G., Graham, D.W.C. and Steinkras, K.H. 1968. Fermented peanut press cake. Cereal Science Today. 13(3): 96 -99.