

Karakteristik Fermentasi Kedelai yang Diperkaya Mineral Zn dengan *Rhizopus sp.*

Fermentation Characteristics of Soybean Enriched with Zn Minerals Using *Rhizopus sp.*

FA Cahyani¹, T Toharmat^{1*}, I Prihantoro¹

Corresponding email:
toharmat@apps.ipb.ac.id,

¹Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University, kampus IPB Dramaga Jalan Agatis, Bogor 16144, Indonesia

ABSTRACT

Zinc (Zn) supplementation is needed by livestock to overcome decreased body immunity due to problems with feed quality and environmental stress that affect their productivity levels. This research aims to analyze the fermentation characteristics of *Rhizopus sp.* on soybeans as a substrate with different levels of Zn mineral and fermentation times. This study uses a complete factorial design with 4 replications. Factor 1 is the Zn mineral level, namely 0, 400, 800, 1200, and 1600 ppm. Factor 2 is the fermentation time, namely 0, 1, 2, 3, and 4 days. The data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA), and significantly different treatments were further tested with Duncan's Multiple Range Test (DMRT) in the SPSS 25 program. The results of the analysis indicate that Zn levels ≥ 800 ppm significantly ($p < 0.05$) inhibit mycelium development on the first day of fermentation. Increasing Zn levels significantly ($p < 0.05$) decreases the average acidity level and significantly ($p < 0.05$) increases the substrate ash content, while fermentation time significantly ($p < 0.05$) increases acidity level and decreases biomass, dry matter content, organic matter, and ash content of substrate. Zn level and fermentation time treatments influence the growth and performance of *Rhizopus sp.* in transforming soybean nutrients.

Key words: fermentation, *Rhizopus sp.*, soybean, Zn mineral

ABSTRAK

Suplementasi mineral Zn dibutuhkan oleh ternak untuk mengatasi penurunan imunitas tubuh akibat permasalahan kualitas pakan dan cekaman lingkungan yang mempengaruhi tingkat produktivitas ternak. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis karakteristik fermentasi *Rhizopus sp.* pada kedelai sebagai substrat dengan level mineral Zn dan waktu fermentasi yang berbeda. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 4 ulangan. Faktor 1 adalah level mineral Zn yaitu 0, 400, 800, 1200, dan 1600 ppm. Faktor 2 adalah waktu fermentasi yaitu 0, 1, 2, 3, dan 4 hari. Data dianalisis menggunakan *Analysis of variance* dan perlakuan yang signifikan berbeda akan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan level Zn ≥ 800 ppm sangat signifikan ($p < 0,01$) menghambat perkembangan miselium pada hari ke-1 fermentasi. Peningkatan level Zn signifikan ($p < 0,05$) menurunkan rata-rata derajat keasaman dan sangat signifikan ($p < 0,01$) terhadap peningkatan kandungan abu substrat, sedangkan waktu fermentasi sangat signifikan ($p < 0,01$) meningkatkan derajat keasaman serta menurunkan biomassa, kandungan bahan kering, bahan organik, dan abu substrat. Simpulan hasil penelitian menunjukkan perlakuan level Zn dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kinerja *Rhizopus sp.* dalam merombak nutrisi kedelai.

Kata kunci: fermentasi, kedelai, mineral Zn, *Rhizopus sp.*

PENDAHULUAN

Mineral Zn merupakan mineral yang berfungsi untuk meningkatkan imunitas dan produktivitas ternak (Mattioli et al. 2020). Kekurangan mineral Zn menyebabkan terjadinya penurunan bobot hidup, nafsu makan yang berkurang, kerontokan rambut pada beberapa bagian tubuh, dan gangguan reproduksi pada ruminansia. Kasus kekurangan mineral Zn pada pakan ternak akibat kualitas pakan yang rendah sering ditemui di Indonesia. Selain itu, defisiensi mineral Zn juga dapat diakibatkan oleh defisiensi sekunder, yaitu terjadinya antagonistik dengan mineral lain seperti Cu. Meskipun kandungan mineral Zn pakan telah mencukupi kebutuhan ternak melalui suplementasi Zn anorganik, namun tetap memberikan respon defisiensi karena tingginya kandungan Cu. Salah satu alternatif untuk meminimilasi defisiensi sekunder adalah dengan penggunaan suplemen Zn organik (Suprijati 2013).

Produksi mineral Zn organik dapat dilakukan melalui bioproses menggunakan ragi *Rhizopus* sp. pada suatu substrat. *Rhizopus* sp dikenal sebagai kapang penghasil berbagai enzim seperti protease, amilase, dan lipase. Selain itu, proses fermentasi yang melibatkan *Rhizopus* sp. dapat dimanfaatkan untuk mengubah bentuk mineral Zn anorganik menjadi organik (Endarwati & Kusumaningtyas 2017). Penggunaan *Rhizopus* sp. untuk fermentasi kedelai telah umum di kalangan masyarakat untuk meningkatkan kandungan nutrisi produk dan dapat berguna bagi kesehatan ternak (Bujang & Taib 2014). Selama proses fermentasi berlangsung, ragi memetabolisme kandungan Zn dalam substrat membentuk ikatan dengan gugus karbohidrat atau protein sederhana yang akan meningkatkan ketersediaan Zn bagi ternak.

Keberhasilan proses fermentasi dipengaruhi oleh kemampuan inokulum merombak substrat dan waktu waktu fermentasi. Proses fermentasi yang berhasil akan meningkatkan kualitas produk yang dibandingkan produk aslinya. Kinerja *Rhizopus* sp. dalam merombak nutrisi substrat akan terhambat apabila diberikan mineral Zn di atas kadar toleransi saat fermentasi. Sey & Belford (2021) menyebutkan bahwa toleransi toksisitas *Rhizopus* sp. terhadap Zn adalah 800 ppm yang ditunjukkan dengan penurunan pertumbuhan hifa.

Evaluasi penambahan level mineral Zn dengan waktu fermentasi yang berbeda diperlukan untuk menganalisis optimasi peran *Rhizopus* sp. terhadap ketersediaan mineral Zn berdasarkan karakteristik fermentasi. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi mengenai efektifitas *Rhizopus* sp. pada media kedelai yang diperkaya mineral Zn untuk dihasilkan produk suplemen pakan Zn organik. Tujuan dari penelitian ini adalah mengungkap karakteristik fermentasi dari *Rhizopus* sp. pada kedelai sebagai substrat dengan perbedaan level mineral dan waktu fermentasi.

METODE

Bahan dan Alat yang Digunakan

Penelitian ini menggunakan media kedelai yang difermentasi dengan ragi *Rhizopus* sp, dengan penambahan mineral Zn berbagai level. Peralatan yang digunakan untuk membuat fermentasi kedelai, dan pengukuran suhu dan kelembaban

Prosedur Penelitian

Persiapan sampel

Campuran Mineral $Zn^{2+}SO_4^{2-} \cdot 7H_2O$ dan 9 g ragi *Rhizopus* sp. dengan level Zn masing-masing sebesar 0, 400, 800, 1200, dan 1600 ppm ditambahkan pada 1800 g kedelai siap ragi secara merata. Kemudian kedelai dimasukkan sebanyak 450 g ke dalam kantong plastik yang telah dilubangi lalu direkatkan menggunakan *sealer* dan dipadatkan. Sampel disimpan di rak dan di ruangan khusus sewaktu waktu perlakuan yang telah ditentukan. Sampel yang telah terfermentasi selanjutnya diuji berdasarkan peubah yang diterapkan. Susunan perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Suhu dan kelembapan lingkungan

Suhu dan kelembapan lingkungan fermentasi diukur sebanyak satu kali dalam sehari yaitu pukul 16.00 WIB setelah masa fermentasi dengan alat *thermohyrometer*. Alat tersebut diletakkan pada dinding di ruangan khusus proses fermentasi media yang diamati.

Perkembangan miselium

Perkembangan miselium (PM) pada media dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$PM (\%) = \frac{\text{Berat media berhifa (g)}}{\text{Berat media total setelah fermentasi (g)}} \times 100$$

Penurunan biomassa

Penurunan biomassa media (PBM) dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$PBM = B_0 - B_1$$

B_0 = Bobot basah media sebelum fermentasi (g)

B_1 = Bobot basah media setelah fermentasi (g)

Analisis proksimat

Pengukuran kandungan nutrisi media meliputi kandungan bahan kering (BK), kandungan bahan organik (BO), dan kandungan abu (AOAC 2005).

Tabel 1 Susunan perlakuan

Waktu fermentasi (hari)	Level Zn (ppm)				
	P0	P1	P2	P3	P4
0	0	400	800	1200	1600
1	0	400	800	1200	1600
2	0	400	800	1200	1600
3	0	400	800	1200	1600
4	0	400	800	1200	1600

Keterangan: P0, P1, P2, P3, dan P4 dengan fermentasi yang dilakukan selama 0, 1, 2, 3, dan 4 hari dengan level 0, 400, 800, 1200 dan 1600 (ppm).

Analisis derajat keasaman (pH) media (Suwetja 2007)

Sampel media terfermentasi dilarutkan ke dalam akuades dengan perbandingan 1:2 sewaktu 1 menit. Selanjutnya pH sampel diukur dengan pH meter yang telah terkalibrasi lalu dibilas sebelum menuju sampel selanjutnya. Alat pH perlu dikalibrasi ulang setiap 30 sampel pengukuran pH untuk mencegah data yang bias.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 4 ulangan, faktor (1): perbedaan level mineral Zn: 0, 400, 800, 1200, dan 1600 ppm (2) perbedaan waktu fermentasi: 0, 1, 2, 3, dan 4 hari. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance*. Perlakuan yang signifikan diuji lanjut dengan uji *duncan multiple range test* (DMRT) menggunakan program SPSS *Statistic* 25.

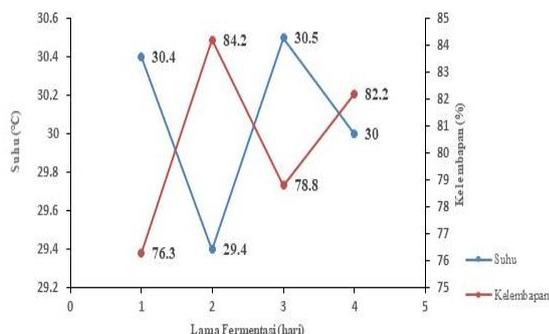
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Lingkungan

Hasil pengukuran suhu dan kelembapan pada saat fermentasi selama 4 hari diperoleh rata-rata suhu yang berkisar 29,3–30,5°C dan rata-rata kelembapan udara yaitu 76,3–84,2%. Nilai suhu dan kelembapan lingkungan fermentasi adalah normal dan memungkinkan untuk terjadinya proses fermentasi media kedelai dengan *Rhizopus* sp. dengan baik. Kisaran suhu dan kelembapan optimal untuk proses fermentasi media kedelai dengan jamur *Rhizopus* sp. adalah 25–37 °C (Tahir et al. 2018) dan 70–80% (Ari et al. 2020). Suhu ekstrim di luar suhu optimum akan mengganggu aktivitas jamur sehingga pertumbuhan miselium terhambat (Sher et al. 2011; Rauf et al. 2010). Data pengukuran suhu dan kelembapan selama fermentasi tempe berbagai jenis level Zn dengan menggunakan jamur *Rhizopus* sp. disajikan pada Gambar 1.

Perkembangan Miselium

Miselium adalah komponen jamur multiseluler yang disusun dari seluruh massa atau kumpulan hifa.



Gambar 1 Suhu dan kelembapan ruang fermentasi sewaktu fermentasi

Pertumbuhan *Rhizopus* sp. dicirikan dengan perkembangan miselium yang merupakan salah satu indikator keberhasilan inokulasi. Perkembangan miselium *Rhizopus* sp. dipengaruhi kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembapan (Natawijaya et al. 2015), derajat keasaman (Dewi et al. 2014), serta ketersediaan nutrisi substrat (Triyono et al. 2017). Hasil penelitian perkembangan miselium pada kedelai sebagai substrat berdasarkan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda disajikan pada Tabel 2.

Hasil penelitian (Tabel 2) menunjukkan interaksi dari perkembangan miselium antara faktor perlakuan yakni level Zn dan waktu fermentasi ($p < 0,01$). Miselium mulai tumbuh secara signifikan pada hari pertama, meskipun demikian penggunaan mineral Zn mulai dari level 800 ppm sangat nyata menurunkan perkembangan miselium. Perkembangan miselium menunjukkan stabil sejak waktu fermentasi hari ke-2. Penurunan perkembangan miselium pada media mulai dari level Zn 800 ppm terjadi akibat adanya hambatan pada pertumbuhan *Rhizopus* sp. Hambatan tersebut diakibatkan pemberian konsentrasi mineral Zn pada substrat dengan level yang toksik bagi *Rhizopus* sp. Menurut Sey & Belford (2021), *Rhizopus* sp. memiliki toleransi yang baik terhadap mineral Zn, meskipun demikian toleransi toksisitas *Rhizopus* sp. terhadap Zn adalah 800 ppm yang ditunjukkan dengan penurunan pertumbuhan hifa.

Kondisi toksik dengan konsentrasi mineral Zn yang tinggi menyebabkan mekanisme biosorpsi atau bioakumulasi mineral oleh jamur menjadi terhambat. Pengikatan logam ion pada permukaan dinding sel jamur terjadi secara pasif dan tidak bergerak ke dalam sel hingga jamur mampu mengakumulasi cukup protein untuk berikatan dengan logam pada dinding sel dan melanjutkan proses metabolisme (Khan et al. 2016). Perkembangan miselium yang sama pada setiap perlakuan penambahan level Zn yang berbeda ditunjukkan mulai hari ke-2, 3, dan 4 fermentasi. Perkembangan miselium yang sama menunjukkan bahwa jamur memiliki mekanisme adaptasi melalui kemampuannya menghilangkan logam berat dari substrat. Jamur banyak digunakan sebagai biosorben untuk menghilangkan logam beracun dengan kapasitas yang sangat baik untuk penyerapan dan pemulihan logam (Fu et al. 2012). Sebagian besar penelitian menunjukkan bahwa sel jamur aktif dan mati memainkan peran penting dalam adhesi bahan kimia anorganik yang mampu menurunkan tingkat toksisitas suatu logam berat (Igri et al. 2018).

Beberapa penelitian lainnya menjelaskan bahwa jamur memiliki kemampuan biosorpsi dan mengikat logam pada permukaannya serta menunjukkan adanya keterlibatan gen seperti *hydrophobin* dalam memberikan kemampuan toleransi logam (Liaquat et al. 2020).

Tabel 2 Perkembangan miselium pada kedelai sebagai substrat dengan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda

Waktu fermentasi (hari)	Level Zn (ppm)					Rataan
	0	400	800	1200	1600	
	----- % -----					
0	0,00±0,0 ^C	0,00±0,00 ^C	0,00±0,00 ^C	0,00±0,00 ^C	0,00±0,00 ^C	0,00±0,00 ^C
1	99,50±0,62 ^A	97,31±5,05 ^A	73,37±0,10 ^B	54,99±50,08 ^B	17,32±22,07 ^C	68,5±33,97 ^B
2	100,0±0,00 ^A	100,0±0,00 ^A	100,0±0,00 ^A	100,0±0,00 ^A	100,0±0 ^A	100,0±0,00 ^A
3	100,0±0,00 ^A	100,0±0,00 ^A	99,86±0,28 ^A	100,0±0,00 ^A	100,0±0 ^A	99,97±0,06 ^A
4	100,0±0,00 ^A	100,0±0,00 ^A	100,0±0,00 ^A	100,0±0,00 ^A	100,0±0 ^A	100,0±0,00 ^A
Rataan	79,90±44,66 ^A	79,46±44,43 ^A	74,64±43,28 ^A	71,0±44,21 ^{AB}	63,46±50,40 ^B	

Angka pada baris dan kolom dengan superskrip huruf kapital yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (p<0,01)

Penurunan Biomassa

Pengamatan biomassa substrat dilakukan untuk mengetahui perubahan berat substrat yang terjadi selama penelitian dan melihat hubungannya dengan pertumbuhan miselium. Tidak terjadi interaksi antar faktor perlakuan, berdasarkan nilai rata-ran perbedaan level Zn tidak menunjukkan pengaruh signifikan. Sementara itu, waktu waktu fermentasi yang diberikan berpengaruh sangat signifikan (p<0,01) terhadap penurunan biomassa substrat. Penurunan biomassa terjadi pada substrat yang difermentasi dan meningkat seiring bertambahnya durasi waktu fermentasi. Penurunan biomassa tertinggi terjadi pada hari fermentasi ke-4 dengan nilai 50,34±2,69 g. Selama proses fermentasi terdapat nutrisi substrat yang digunakan untuk perkembangan miselium *Rhizopus* sp. Penggunaan material organik oleh jamur *Rhizopus* sp. dalam proses metabolisme nutrisi sewaktu fermentasi menyebabkan adanya penurunan biomassa substrat (Herlina 2016). Pengaruh perlakuan terhadap penurunan biomassa substrat (*as feed*) disajikan pada Tabel 3.

Kandungan Bahan Kering, Bahan Organik, dan Abu Kedelai sebagai Substrat dengan Penambahan Level Zn dan Waktu Fermentasi yang Berbeda

Karakteristik nutrisi dari substrat yang terfermentasi terhadap perlakuan meliputi kandungan bahan kering (BK), kandungan bahan organik (BO), dan kandungan

abu yang disajikan pada Tabel 4, 5, dan 6. Tidak terjadi interaksi antar faktor perlakuan, berdasarkan nilai rata-ran perbedaan level Zn tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kandungan BK substrat. Perlakuan lama waktu fermentasi (1, 2, 3, dan 4 hari) berpengaruh sangat signifikan (p<0,01) menurunkan kandungan BK dibandingkan dengan 0 hari. Penurunan bahan kering substrat seiring waktu fermentasi berkaitan dengan peningkatan proses metabolisme *Rhizopus* sp. dalam merombak komponen substrat.

Penurunan kandungan BK terjadi akibat perombakan komponen dalam substrat menjadi produk yang larut dalam air dan CO₂ oleh jamur (Ghunu & Tarmidi 2006). Selain itu, penurunan bahan kering disebabkan penggunaan nutrisi substrat oleh *Rhizopus* sp. untuk melakukan pembelahan sel (Widyahapsari et al. 2016). Hal ini ditandai dengan penurunan biomassa substrat dan adanya peningkatan jumlah miselium yang berkembang.

Degradasi bahan organik (BO) meningkat seiring dengan bertambahnya durasi waktu fermentasi mengikuti pola degradasi bahan kering (BK). Tidak terjadi interaksi antar faktor perlakuan, berdasarkan nilai rata-ran perbedaan level Zn tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kandungan BO media. Sementara itu, perlakuan waktu fermentasi (1, 2, 3, dan 4 hari) berpengaruh sangat signifikan (p<0,01) menurunkan kandungan bahan organik dibandingkan dengan 0 hari.

Tabel 3 Penurunan biomassa kedelai sebagai substrat dengan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda

Waktu fermentasi (hari)	Level Zn (ppm)					Rataan
	0	400	800	1200	1600	
	----- % -----					
0	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±00A
1	16,87±6,23	21,77±17,36	16,12±10,23	15,67±10,29	13,82±8,15	16,85±2,97 ^B
2	27,97±8,83	30,47±11,46	29,72±12,87	29,82±12,66	27,52±10,58	29,10±1,27 ^C
3	36,37±12,84	43,17±15,12	35,82±15,28	37,42±11,45	36,67±8,61	37,89±3,00 ^D
4	48,92±10,90	53,87±18,29	52,57±21,41	47,87±11,06	48,47±14,38	50,34±2,69 ^E
Rataan	26,0±18,68	29,8±20,68	26,8±19,91	26,15±18,74	25,29±18,99	

Angka pada baris dan kolom dengan superskrip huruf kapital yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (p<0,01)

Tabel 4 Kandungan bahan kering kedelai sebagai substrat dengan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda

Waktu fermentasi (hari)	Level Zn (ppm)					Rataan
	0	400	800	1200	1600	
	----- % -----					
0	55,32±3,18	47,34±4,28	47,99±9,62	49,38±4,70	49,73±6,20	49,95±3,15 ^A
1	40,07±0,25	40,58±0,57	41,02±0,69	41,43±0,58	41,86±0,69	40,99±0,70 ^B
2	39,58±0,53	38,96±1,21	40,16±0,88	40,11±0,37	41,23±0,78	40,01±0,84 ^B
3	39,29±0,69	38,95±1,41	39,07±0,90	40,41±0,93	39,77±2,92	39,50±0,59 ^B
4	38,47±0,69	39,43±0,62	39,00±1,33	39,86±1,04	39,91±1,02	39,33±0,60 ^B
Rataan	42,55±7,16	41,05±3,57	41,45±3,74	42,24±4,03	42,50±4,13	

Angka pada baris dan kolom dengan superskrip huruf kapital yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$)

Penurunan kandungan BO substrat terjadi karena adanya penggunaan BO untuk pertumbuhan jamur yang ditandai dengan perkembangan miselium. Selain itu, bahan organik juga dikonversi menjadi hasil samping metabolisme jamur. Proses fermentasi menyebabkan adanya konversi bahan organik substrat menjadi miselium *Rhizopus* sp., air, dan pengurangan substrat biomassa di CO_2 (Azzahra et al. 2022). Hilangnya bahan organik akibat fermentasi oleh *Rhizopus* sp. sangat besar selama pertumbuhan miselium (Zadrazil & Kurtzman 1984).

Kandungan abu memiliki hubungan dengan kandungan BK dan BO substrat. Tidak ada interaksi antara faktor perlakuan, berdasarkan nilai rata-rata waktu fermentasi menunjukkan bahwa kandungan abu substrat pada waktu fermentasi hari ke-2, 3, dan 4 sangat signifikan ($p < 0,01$) menurunkan dibandingkan dengan 0 dan 1 hari. Penurunan kandungan abu substrat terjadi akibat peningkatan bahan organik. Proses degradasi yang dilakukan oleh mikroorganisme selama fermentasi akan meningkatkan bahan organik suatu substrat. Semakin banyak penurunan kandungan abu mengindikasikan bahwa semakin banyak bahan organik yang terdegradasi (Styawati et al. 2014).

Perbedaan level Zn berpengaruh sangat signifikan ($p < 0,01$) terhadap kandungan abu media. Kandungan abu dengan level 0 ppm memiliki nilai rata-rata terendah lalu konsisten meningkat pada penggunaan level Zn tertinggi. Menurut Kristiandi et al. (2021) kandungan

abu merupakan banyaknya kandungan sisa zat anorganik hasil pembakaran suatu bahan organik yang memiliki hubungan dengan kandungan mineral suatu bahan. Semakin tinggi kandungan anorganik pada media berupa mineral maka akan meningkatkan kandungan abu media tersebut.

Derajat Keasaman (pH) Substrat

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor yang memengaruhi pertumbuhan miselium. Nilai pH yang ideal untuk pertumbuhan *Rhizopus* sp. berada pada kisaran 3,4-6 (Mukhoyaroh 2015). Perbedaan level Zn dan lama waktu fermentasi berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) terhadap pH substrat, serta tidak ada interaksi antara faktor perlakuan.

Karakteristik pH substrat cenderung meningkat seiring dengan lama waktu fermentasi. Nilai pH pada 0 hari fermentasi adalah asam (3,95-4,4). Selanjutnya, pH substrat meningkat seiring waktu fermentasi dan menghasilkan pH yang mendekati netral. Peningkatan nilai pH terjadi akibat aktivitas protease yang dihasilkan selama fermentasi media sehingga protein kedelai mengalami perombakan atau terdegradasi. Proses degradasi protein ditandai dengan peningkatan perkembangan miselium sebagai bentuk hasil metabolisme *Rhizopus* sp. dalam menghasilkan enzim pendegradasi protein yaitu protease dan enzim hidrolitik lainnya seperti amilase, lipase, dan pektinase.

Tabel 5 Kandungan bahan organik kedelai sebagai substrat dengan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda

Waktu fermentasi (hari)	Level Zn (ppm)					Rataan
	0	400	800	1200	1600	
	----- % -----					
0	53,66± 3,28	45,71±4,11	46,08±8,82	47,48±4,70	47,71±6,08	48,13±3,21 ^A
1	38,85±0,52	39,45±0,54	39,84±0,67	39,81±0,45	40,14±0,96	39,62±0,49 ^B
2	38,61±0,42	37,73±1,08	39,08±0,99	38,64±0,28	39,52±0,80	38,72±0,66 ^B
3	38,10±0,36	37,66±1,47	37,68±0,85	39,08±0,54	38,19±2,84	38,14±0,57 ^B
4	37,39±0,58	38,13±0,61	37,66±1,32	38,60±0,74	38,48±0,84	38,05±0,52 ^B
Rataan	41,32±6,91	39,74±3,41	40,07±3,48	40,72±3,80	40,81±3,93	

Angka pada baris dan kolom dengan superskrip huruf kapital yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$)

Tabel 6 Kandungan abu media kedelai sebagai substrat dengan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda

Waktu fermentasi (hari)	Level Zn (ppm)					Rataan
	0	400	800	1200	1600	
	----- % -----					
0	1,66±0,13	1,63±0,22	1,91±0,81	1,90±0,20	2,03±0,22	1,82±0,17 ^A
1	1,22±0,49	1,13±0,22	1,19±0,04	1,62±0,34	1,71±0,32	1,37±0,27 ^A
2	0,97±0,24	1,23±0,27	1,08±0,21	1,47±0,40	1,71±0,39	1,29±0,30 ^B
3	1,19±0,20	1,28±0,30	1,40±0,17	1,33±0,45	1,59±0,41	1,36±0,15 ^B
4	1,08±0,30	1,30±0,10	1,34±0,29	1,26±0,38	1,43±0,23	1,28±0,13 ^B
Rataan	1,22±0,26 ^C	1,3±0,19 ^{BC}	1,38±0,32 ^{BC}	1,51±0,26 ^{AB}	1,69±0,22 ^A	

Angka pada baris dan kolom dengan superskrip huruf kapital yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$)

Selain itu, proses degradasi protein juga ditunjukkan dari penurunan bahan kering karena adanya pemecahan senyawa kompleks menjadi sederhana sehingga dapat lebih mudah dimanfaatkan oleh jamur. Peningkatan aktivitas protease akan meningkatkan proses degradasi protein menjadi peptida, asam amino dan amonia (Steinkraus 1995; Singh *et al.* 2014; Rahayu *et al.* 2019). Senyawa amonia memiliki pH basa sehingga menyebabkan peningkatan pH substrat.

Nilai rataan pH substrat cenderung menurun seiring dengan penambahan level Zn. Nilai pH pada level Zn 0 ppm adalah mendekati pH netral, selanjutnya pH substrat menurun seiring penambahan level Zn. Hal ini disebabkan oleh karakteristik mineral Zn pada substrat yang bersifat asam. Nilai pH alami dari larutan 2 M $ZnSO_4$ adalah 5,2 dan dapat lebih rendah lagi tergantung keberadaan asam bebas dalam bahan kimia (Wang & Dreisinger 1998). Penambahan $ZnSO_4$ pada suatu substrat mampu menurunkan pH dari substrat tersebut. Hasil penelitian derajat keasaman (pH) kedelai sebagai substrat berdasarkan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda disajikan pada Tabel 7.

SIMPULAN

Karakteristik fermentasi *Rhizopus* sp. pada kedelai sebagai substrat dengan level Zn ≥ 800 ppm menghambat perkembangan miselium pada awal

fermentasi (1 hari). Peningkatan level Zn menurunkan pH dan meningkatkan kandungan abu substrat sedangkan waktu fermentasi meningkatkan pH dan menurunkan biomassa, kandungan bahan kering, bahan organik, serta abu substrat.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2005. *Official Methods of Analysis*. Arlington (US): AOAC International.
- Ari R, Hastian A & Priambudi. 2020. Analisis kualitas tempe di pasar Baruga Kendari. *Sjar*. 1(1): 54-60.
- Azzahra YR, Toharmat T & Prihantoro I. 2022. Bio-processing plantation by-products with white oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) to improve fermentability and digestibility based on substrate type and fermentation time. *Buletin Peternakan*. 46 (4): 228-234. doi: 10.21059/buletinpeternak.v46i4.74574
- Bujang A & Taib NA. 2014. Changes on amino acids content in soybean, garbanzo bean and groundnut during pre-treatments and tempe making. *Sains Malaysiana*. 43:551-557.
- Dewi AK, Utama CS & Mukodiningsih S. 2014. Kandungan total fungi serta jenis kapang dan khamir pada limbah pabrik pakan yang difermentasi dengan berbagai aras starter 'starfung'. *Jurnal Agripet*. 14(2): 102-106.
- Endarwati D & Kusumaningtyas E. 2017. Beberapa fungsi *Rhizopus* sp dalam meningkatkan nilai nutrisi bahan pakan. *Wartazoa*. 27(2): 081-088. Doi: 10.14334/wartazoa.v27i2.1181
- Fu QY, Li S & Zhu YH. 2012. Biosorption of copper (II) from aqueous solution by mycelial pellets of *Rhizopus oryzae*. *African Journal of Biotechnology*. 11(6):1403-1411. doi: 10.5897/AJB11.2809

Tabel 7 Derajat Keasaman (pH) kedelai sebagai substrat dengan penambahan level Zn dan waktu fermentasi yang berbeda

Waktu fermentasi (hari)	Level Zn (ppm)					Rataan
	0	400	800	1200	1600	
	----- % -----					
0	4,40±0,87	3,95±0,84	4,15±0,93	4,03±0,85	4,03±0,85	4,11±0,18 ^E
1	5,30±0,65	4,50±0,84	4,58±0,63	4,33±0,80	4,25±0,83	4,59±0,42 ^D
2	5,95±0,65	5,45±0,69	5,33±0,61	5,13±0,81	5,13±0,85	5,40±0,34 ^C
3	6,25±0,54	5,98±0,59	6,00±0,95	5,80±0,77	5,65±0,79	5,94±0,23 ^B
4	6,75±0,60	6,73±0,35	6,55±0,60	6,28±0,51	5,83±0,68	6,43±0,39 ^A
Rataan	5,73±0,91 ^a	5,32±1,11 ^{ab}	5,32±1,03 ^{ab}	5,11±0,95 ^b	4,98±0,81 ^b	

Keterangan: Angka pada baris dan kolom dengan superskrip huruf kapital yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$)

- Ghunu S & Tarmidi AR. 2006. Perubahan komponen serat rumput Kume (*Sorghum plumosum* var. Timorensis) hasil biokonversi jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) akibat kadar air substrat dan level inokulum yang berbeda. *Animal Science Journal*. 6(2):81-86. doi: 10.24198/jit.v6i2.2272.
- Igri BE, Okuduwa SIR, Idoko GO, Akabuogu EP, Adeyi AO & Ejigo IK. 2018. Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater. *Journal Toxicology*. 1-16. doi: 10.1155/2018/2568038
- Judoamidjojo RE, Gumbira & Hartato L. 1989. *Biokonversi*. Bogor (ID): Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Khan Z, Rehman A & Hussain SZ. 2016. Resistance and uptake of cadmium by yeast, *Pichia hampshirensis* 4Aer, isolated from industrial effluent and its potential use in decontamination of wastewater. *Chemosphere*. 159:32-43. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.05.076
- Kristiandi K, Rozana, Junardi M & Andi. 2021. Analisis kadar air, abu, serat dan lemak pada minuman sirup jeruk siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. 9(2): 165-171. doi: [10.21776/ub.jkptb.2021.009.02.07](https://doi.org/10.21776/ub.jkptb.2021.009.02.07)
- Liaquat F, Munis MFH, Haroon U, Arif S, Saqib S, Zaman W, Khan AR, Shi J, Che S & Liu Q. 2020. Evaluation of metal tolerance of fungal strains isolated from contaminated mining soil of nanjing, China. *Biology*. 9(12):469. doi: 10.3390/biology9120469
- Mattioli GA, Rosa DE, Turic E, Picco SJ, Raggio SJ, S. Minervino AHH & Fazio LE. 2020. Effects of parenteral supplementation with minerals and vitamins on oxidative stress and humoral immune response of weaning calves. *Animals*. 10(8): 1298. doi: [10.3390/ani10081298](https://doi.org/10.3390/ani10081298)
- Mukhoyaroh H. 2015. Pengaruh jenis kedelai, waktu dan suhu pemeraman terhadap kandungan protein tempe kedelai. *Florea*. 2(2): 47-51. doi: 10.25273/florea.v2i2.415
- Natawijaya D, Saepudin A & Pangesti D. 2015. Uji kecepatan pertumbuhan jamur *Rhizopus stolonifer* dan *Aspergillus niger* yang diinokulasikan pada beberapa jenis buah lokal. *Jurnal Siliwangi*. 1(1): 32-40.
- Rahayu NA, Cahyanto MN & Indrati R. 2019. Pola perubahan protein koro bengkuk (*Mucuna pruriens*) sewaktu fermentasi tempe menggunakan inokulum Raprima. *Agritech*. 39 (2):128-135. doi: 10.22146/agritech.41736
- Rauf A, Irfan M, Nadeem M, Ahmed I & Iqbal H. 2010. Optimization of growth conditions for acidic protease production from *Rhizopus oligosporus* through solid state fermentation of sunflower meal. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*. 4(12): 898-901
- Sey E & Belford EJD. 2021. Heavy metals tolerance potential of fungi species isolated from gold mine tailings in Ghana. *Journal Environmental Health and Sustainable Development*. 6(1):1231-42. Doi: 10.18502/jehsd.v6i1.5765
- Sher M, Nadeem M, Syed Q, Abass S & Hassan A. 2011. Study on protease from barley tempeh and in vitro protein digestibility. *Jordan Journal of Biological Science*. 4(4): 257- 264.
- Shin TH. 1996. *Practical Uses of Yeast Culture (CYC-100) in Swine, Poultry and Ruminant Rations*. Seoul (KR): Choong Ang Chemical Co. Ltd.
- Singh BP, Vij S & Hati S. 2014. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides*. 54: 171-179. doi: 10.1016/j.peptides.2014.01.022
- Steinkraus KH. 1995. *Handbook of Indigenous Fermented Foods, 2nd revised and expanded edn*. New York (US): Marcel Dekker.
- Styawati NE, Muhtarudin & Liman. 2014. Pengaruh lama fermentasi *Trametes* sp. terhadap kadar bahan kering, kadar abu, dan kadar serat kasar daun nenas varietas *Smooth cayenne*. *Jurnal Ilmu Peternakan Terpadu*. 2(1):19-24. doi: 10.23960/jipt.v2i1.p%25p
- Suprijati. 2013. Seng organik sebagai imbuhan pakan ruminansia. *Wartazoa* 23(3):142-157.
- Suwetja IK. 2007. *Biokimia Hasil Perikanan*. Jilid III. Rigormortis, TMAO, dan ATP. Manado (ID): Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Tahir A, Anwar M, Mubeen H & Raza S. 2018. Evaluation of physicochemical and nutritional contents in soybean fermented food tempeh by *Rhizopus oligosporus*. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*. 17(1):1-9. doi: 10.9734/JABB/2018/26770
- Triyono M, Nazaruddin & Werdiningsih W. 2017. Uji aktivitas inokulum tempe dari bahan limbah kulit pisang terhadap mutu tempe kedelai. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 3(1): 200-206.
- Wang W & Dreisinger DB. 1998. The acid base behavior of zinc sulfate electrolytes: the temperature effect. *Metall Mater Trans B*. 29B:1157-1166. doi: 10.1007/S11663-998-0037-7
- Widyahapsari D, Indrati R, Setyabudi S & Sardjono. 2016. Evaluasi perlakuan pendahuluan menggunakan kalsium hidroksida untuk biokonversi jerami padi menjadi L-asam laktat oleh *Rhizopus oryzae* AT3. *AGRITECH*. 36(3): 253-260. doi: 10.22146/agritech.16587
- Zadrazil F & Kurtzman Jr. 1984. *The Biology of Pleurotus Cultivation in The Tropics*. In: Chang ST and Quinoa TS (Ed). *Tropical Mushrooms, 42 Biological Nature and Cultivation Methods*. Hongkong (HK): The Chinese University Press.