

Karakteristik Fermentasi Kedelai yang Diperkaya Cu dengan *Rhizopus oryzae*

Characteristics Different of Cu Enriched Soybean with *Rhizopus oryzae*

H A Prasasti¹, T Toharmat^{1*}, I Prihantoro¹

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

¹ Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

ABSTRACT

Copper (Cu) addition prevents deficiency and optimizes the enzyme system, metabolic system, and increases immunity. This study examines *Rhizopus oryzae* in soybean media with the addition of Cu and different fermentation times on fluctuations in soybean media fermentation. The study used a factorial completely randomized design with two factors with 4 replications. Factor A is Cu (0, 500, 1000, 1500, 2000 ppm), and factor B is the fermentation time (0, 1, 2, 3, 4 days). The variables observed were humidity, media shrinkage, dry matter (DM), organic matter (OM), ash, and pH. Data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and Duncan's Multiple Range Test (DMRT) using SPSS 25. The results showed that fermented soybean media *Rhizopus oryzae*, Cu significantly ($p < 0.05$) reduced media shrinkage, ash, and acidity levels, and did not affect BK, and BO. Based on the fermentation time, it significantly ($p < 0.05$) reduced media shrinkage, BK and BO, did not affect ash, and increased acidity levels. The conclusion of the study is that Cu has influence on effectiveness of *Rhizopus oryzae* on soybean media.

Key words: Cu, fermentation, *Rhizopus oryzae*, soybean

ABSTRAK

Penambahan tembaga (Cu) mencegah terjadinya defisiensi dan mengoptimalkan sistem kerja enzim, sistem metabolisme, meningkatkan imunitas. Penelitian ini mengkaji *Rhizopus* sp. pada media kedelai dengan penambahan Cu dan lama fermentasi yang berbeda terhadap fluktuasi fermentasi media kedelai. Kajian menggunakan rancangan acak lengkap 2 faktor dengan 4 ulangan. Faktor A adalah Cu (0, 500, 1000, 1500, 2000 ppm), dan faktor B adalah lama fermentasi (0, 1, 2, 3, 4 hari). Peubah yang diamati yaitu kelembaban, penyusutan media, bahan kering (BK), bahan organik (BO), abu, dan pH. Data dianalisis menggunakan Analisa Sidik Ragam (ANOVA) dan jika perlakuan nyata akan dilakukan Duncan's Multiple Range Test (DMRT) menggunakan SPSS 25. Hasil menunjukkan media kedelai fermentasi *Rhizopus oryzae* dengan penambahan Cu nyata ($p < 0,05$) menurunkan penyusutan media, abu, dan derajat keasaman, dan tidak mempengaruhi BK, BO. Berdasarkan lama fermentasi berpengaruh nyata ($p < 0,05$) menurunkan penyusutan media, BK dan BO, tidan mempengaruhi abu, dan meningkatkan derajat keasaman. Simpulan dari penelitian Cu berpengaruh terhadap efektivitas *Rhizopus oryzae* pada media kedelai.

Kata kunci: Cu, fermentasi, kedelai, *Rhizopus oryzae*



Copyright © 2024 by JINTP

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

PENDAHULUAN

Pakan merupakan salah satu pengaruh paling besar pada bidang peternakan dan memiliki peranan sangat penting terhadap produktivitas ternak. Kebutuhan hidup pokok ternak tidak hanya dipenuhi dengan konsentrat dan hijauan. Melainkan ternak memerlukan pakan tambahan berupa asam amino, vitamin, dan mineral. Indonesia termasuk negara yang memiliki iklim tropis dengan suhu mencapai nilai maksimum dengan rata-rata 27°C dan kelembapan udara dengan rata-rata 80% (Hidayat & Fariyah 2020). Tingginya suhu dan kelembapan dapat menyebabkan pertumbuhan ternak kurang optimal yang akan mengganggu kesehatan (Tao & Dahl 2013) serta produktivitas ternak akibat imunitas menurun. Permasalahan tersebut dapat diminimalisir dengan penambahan suplementasi berupa mineral yang memiliki peranan pada sistem kekebalan tubuh.

Tembaga (Cu) termasuk unsur logam berat yang menimbulkan efek kesehatan apabila terikat dalam tubuh. Logam tersebut tidak disarankan untuk langsung ditambahkan dan perlu adanya reaksi dengan senyawa lain yang saling sinergitas untuk menghasilkan mineral anorganik yang aman untuk tubuh. Salah satu mineral mikro Cu yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan nutrisi penting untuk sistem imunitas tubuh (Gorji & Ghadiri 2021). Mineral Cu diperlukan dalam jumlah sedikit sesuai kebutuhan ternak dengan konsentrasi sangat kecil. Penambahan Cu berfungsi untuk mencegah terjadinya defisiensi Cu dan mengoptimalkan sistem kerja enzim, sistem metabolisme, dan meningkatkan imunitas (Hill & Shannon 2019). Pencegahan defisiensi mineral dapat lebih efektif dengan menambahkan mineral organik, karena mineral organik akan lebih mudah diserap dan memiliki ketersediaan lebih tinggi.

Pembuatan Cu organik dengan bantuan *Rhizopus oryzae* salah satu pendekatan yang mudah dan cepat dilakukan dengan proses fermentasi menggunakan media kedelai sebagai sumber protein. Penambahan Cu dilakukan untuk mengetahui sinergitasnya terhadap pertumbuhan miselium *Rhizopus oryzae* yang harapannya menghasilkan Cu organik. Indeks toleransi tinggi (0,91-1,02), *Rhizopus oryzae* toleran terhadap semua konsentrasi Cu (0-125 ppm) (Sey & Belford 2021). Jamur *Rhizopus oryzae* masih berkembang pada Cu dengan konsentrasi hidup hingga 1000 ppm (Oladipo et al. 2018). Hingga saat ini pembuatan mineral organik menggunakan Cu pada media kedelai fermentasi *Rhizopus oryzae* yang dipengaruhi oleh dosis Cu terhadap lama fermentasi sedikit ditemukan. Penelitian ini perlu dilakukan sebagai produk suplemen Cu organik pada ternak untuk mengetahui efektivitas pertumbuhan *Rhizopus oryzae*.

METODE

Bahan yang Digunakan

Media kedelai yang digunakan penelitian ini difermentasi menggunakan *Rhizopus oryzae* dengan

penambahan Cu dengan level yang berbeda. Alat pengukur suhu digunakan selama fermentasi kedelai.

Prosedur Penelitian

Persiapan sampel

Sejumlah $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan *Rhizopus oryzae* 9 g dengan Cu sebesar 0, 500, 1000, 1500, dan 2000 ppm diaduk pada 1800 g kedelai secara merata. Kedelai kemudian dimasukkan sebanyak 450 g ke dalam satu kantong plastik yang telah dilubangi lalu direkatkan menggunakan sealer dan dipadatkan. Rak tempat sampel disimpan di ruangan khusus. Sampel yang telah terfermentasi selanjutnya diuji berdasarkan peubah yang diterapkan. Susunan perlakuan yang diterapkan pada penelitian ini terlihat pada Tabel 1.

Suhu dan kelembapan lingkungan

Karakteristik fisik media diawali dengan mengamati suhu dan kelembapan sampel tiap perlakuan akhir fermentasi sehari satu kali waktu antara pukul (16.00-18.00) WIB menggunakan *thermohygrometer*. Alat yang digunakan diletakkan pada dinding di ruangan khusus proses fermentasi media yang diamati.

Perkembangan miselium

Media perkembangan miselium (PM) dihitung dengan persamaan berikut:

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

Penurunan biomassa

Penurunannya biomassa media (PBM) dihitung menggunakan persamaan berikut: $\text{PBM} = \text{Bo} - \text{Bi}$

Bo = Bobot basah media sebelum fermentasi (g)

Bi = Bobot basah media setelah fermentasi (g).

Analisis proksimat

Media yang meliputi kandungan bahan kering (BK), kandungan bahan organik (BO), dan kandungan abu dianalisis kandungan nutriennya (AOAC 2005).

Tabel 1 Perlakuan waktu fermentasi dikombinasikan dosis Cu ppm

Lama fermentasi (jam)	Dosis Cu (ppm)				
	P0	P1	P2	P3	P4
0	0	500	1000	1500	2000
1	0	500	1000	1500	2000
2	0	500	1000	1500	2000
3	0	500	1000	1500	2000
4	0	500	1000	1500	2000

Keterangan: P0, P1, P2, P3, dan P4 dengan fermentasi yang dilakukan selama 0, 1, 2, 3, dan 4 hari dengan dosis 0, 500, 1000, 1500, dan 2000 (ppm).

Analisis derajat keasaman (pH)

Sampel media terfermentasi (BSN 2022) dilarutkan ke akuades dengan perbandingan 1:2 selama 1 menit. Derajat keasaman (pH) sampel diukur dengan pH meter yang telah terkalibrasi kemudian dibilas sebelum menuju sampel selanjutnya. pH meter dikalibrasi ulang setiap 30 sampel untuk mencegah data yang bias.

Analisis Data

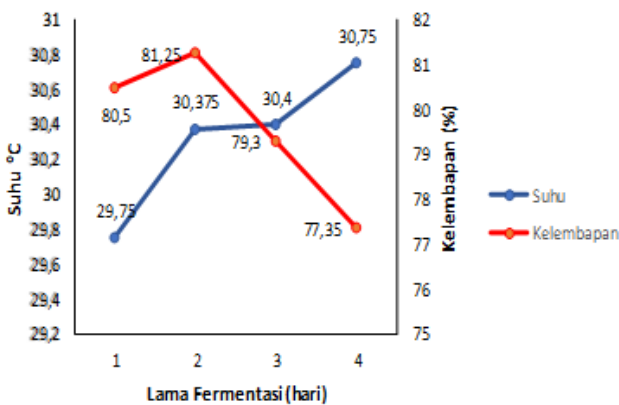
Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor dengan empat ulangan. Faktor Cu (0, 500, 1000, 1500, dan 2000 ppm) dan faktor lama fermentasi (0, 1, 2, 3, dan 4 hari). Data dianalisis dengan *Analysis of Variance (ANOVA)* (Steel & Torrie 1993). Apabila terdapat perlakuan yang nyata pada penyusutan media, BK, BO, abu, dan pH dilakukan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* menggunakan IBM SPSS *Statistic 25*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Suhu dan Kelembapan Lingkungan

Kondisi pertumbuhan miselium yang lambat atau cepat dipengaruhi oleh suhu dan kelembapan ruang fermentasi. Suhu saat fermentasi mengalami peningkatan seiring dengan lamanya fermentasi yang digunakan. Kondisi suhu dan kelembapan saat fermentasi selama 4 hari berkisar dengan rata-rata 29,75°C -30,75°C dan kelembapan udara dengan rata-rata 77,35% - 80,5%. Data pengamatan suhu dan kelembapan lingkungan selama fermentasi dengan dosis Cu yang berbeda menggunakan *Rhizopus oryzae* (Gambar 1).

Suhu dan kelembapan pada fermentasi termasuk rentang normal karena adanya proses pertumbuhan miselium *Rhizopus oryzae* pada media kedelai dengan baik. Miselium *Rhizopus oryzae* dapat tumbuh optimal saat kondisi suhu 25°C -37°C (Sada et al. 2021) atau pemeraman 30°C -37°C dan kelembapan relatif (RH) 70% - 85% (Rahmi et al. 2018). Lebih rendah dan tinggi dari suhu optimum berdampak buruk bagi aktivitas jamur sehingga menghambat miselium (Sher et al. 2011).



Gambar 1 Suhu dan kelembapan lingkungan

Karakteristik Kedelai dengan Penambahan Cu Menggunakan *Rhizopus oryzae*

Bentuk $CuSO_4 \cdot 7H_2O$ yaitu bubuk berwarna biru terang yang saat dicampurkan dengan media kedelai fermentasi mengalami perubahan menjadi hijau tosca. Dosis Cu yang semakin tinggi memberikan warna biru (tosca) yang semakin pekat. Gambaran pertumbuhan miselium dicirikan dengan pertumbuhan miselium pada media kedelai. Detail karakteristik fisik media kedelai dengan penambahan dosis Cu menggunakan fermentasi *Rhizopus oryzae*. (Gambar 2).

Berdasarkan pengamatan fisik secara visual pertumbuhan miselium pada media kedelai dengan Cu berbeda menunjukkan karakteristik pertumbuhan yang berbeda. Pertumbuhan miselium *Rhizopus oryzae* semakin melambat seiring peningkatan Cu yang diberikan. Awal pertumbuhan miselium berdasarkan lama fermentasi dan Cu adalah 1 hari (0 ppm), 2 hari (500 dan 1000 ppm), 3 hari (1500 dan 2000 ppm). Pertumbuhan miselium yang melambat seiring penambahan Cu disebabkan kapang *Rhizopus oryzae* beradaptasi dengan kondisi media setelah ditambahkan mineral dengan dosis berbeda. Waktu yang dibutuhkan mikroorganisme tumbuh untuk beradaptasi sekitar 12 jam (Kurniawati et al. 2019). Fermentasi 48 jam merupakan pertumbuhan jamur optimum untuk menghasilkan miselium (Triyono et al. 2017). Mikroorganisme dapat beradaptasi diri dengan substrat dan lingkungan. Miselium jamur *Rhizopus oryzae* akan membutuhkan waktu lama semakin tinggi dosis mineral. *Rhizopus oryzae* masih hidup pada konsentrasi Cu mencapai 1000 ppm (Sey & Belford 2021).



Gambar 2 Pertumbuhan *Rhizopus oryzae* pada Cu 0-2000 ppm selama 0-4 hari

Tabel 2 Penyusutan media kedelai fermentasi *Rhizopus oryzae*

Lama fermentasi (hari)	Dosis Cu (ppm)					Rataan
	0	500	1000	1500	2000	
(%).....					
0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0 ^a
1	1,57 ± 0,39	1,81 ± 0,17	1,71 ± 0,16	2,54 ± 0,21	1,36 ± 0,74	1,63 ± 0,38 ^b
2	2,53 ± 0,14	2,30 ± 0,50	2,33 ± 0,12	2,16 ± 0,13	2,16 ± 0,25	2,30 ± 0,28 ^c
3	2,53 ± 0,14	3,04 ± 0,38	2,55 ± 1,03	2,54 ± 0,21	2,54 ± 0,64	2,85 ± 0,74 ^d
4	4,44 ± 1,51	3,90 ± 0,46	3,66 ± 0,69	3,13 ± 0,35	3,25 ± 0,78	3,68 ± 0,90 ^e
Rataan	2,41 ± 1,73 ^c	2,21 ± 1,38 ^{bc}	2,05 ± 1,33 ^{abc}	1,91 ± 1,10 ^{ab}	1,83 ± 1,26 ^a	

Rataan dengan *superscript* yang berbeda pada baris atau kolom yang sama dengan berbagai huruf menunjukkan berbeda nyata (p<0,05).

Penyusutan Media Fermentasi

Penyusutan media fermentasi adalah perubahan dari bobot awal media sebelum dan sesudah fermentasi selama penelitian. Penyusutan media dipengaruhi oleh level Cu 1,83 % -2,41 % dan lama fermentasi 0-3,68 %. Hasil media yang menyusut setelah fermentasi tersaji pad Tabel 2.

Lama fermentasi nyata (p<0,05) meningkatkan penyusutan media fermentasi. Media menyusut terjadi pada fermentasi hari 1 (1,63%) dan meningkat dengan lamanya waktu fermentasi. Dosis Cu nyata (p<0,05) menurunkan penyusutan media fermentasi. Perlakuan dosis mineral 0 ppm berbeda nyata dengan perlakuan dosis mineral 2000 ppm. Penyusutan media mulai lama fermentasi 1 h berkaitan dengan degradasi kandungan BO (bahan organik) yang menyebabkan pengurangan bobot substrat karena munculnya pertumbuhan miselium. Fermentasi substrat mengubah Bahan Organik (BO) dari substrat menjadi miselium jamur *P. ostreotus*, air, dan pengurangan substrat biomassa (Toros et al. 2024). Nilai dosis Cu yang semakin tinggi seiring dengan penurunan penyusutan media disebabkan toksisitas Cu terhadap *Rhizopus oryzae* yang dapat menghambat pertumbuhan miselium (Gambar 2). *Rhizopus oryzae* pada konsentrasi Cu mencapai 1000 ppm (Sey & Belford 2021). Presentase penyusutan yang semakin besar seiring lamanya fermentasi berkaitan dengan pertumbuhan miselium semakin cepat sehingga BK

(bahan kering) dan BO mengalami penurunan. Penyusutan substrat yang difermentasi dipengaruhi sumber substrat, lama fermentasi dan jenis fungi (Amara & El-Baky 2023).

Kandungan Bahan Kering (BK), Bahan Organik (BO), dan Abu Media Fermentasi *Rhizopus oryzae*

Pengamatan terhadap kandungan BK, BO, dan abu media kedelai fermentasi *Rhizopus oryzae* berdasarkan Cu dan lama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3. Bahan Kering menurunkan lama fermentasi dengan nyata (p<0,05). Faktor Cu tidak berpengaruh nyata terhadap kandungan BK serta tidak berinteraksi antar faktor. Perlakuan lama fermentasi 4 hari berbeda nyata dengan perlakuan lama fermentasi 0 hari. Kandungan BK semakin menurun seiring dengan lama fermentasi. Kandungan BK yang stabil terhadap perlakuan lama fermentasi terdapat pada lama fermentasi 2 hari.

Penurunan kandungan BK berkaitan dengan proses fermentasi *Rhizopus oryzae* yang mengakibatkan terjadinya metabolisme sel yang ditandai dengan munculnya pertumbuhan miselium pada media (Gambar 2). Penyusutan media dipengaruhi oleh level Cu 40,6% - 42,0 % dan lama fermentasi 39,6% - 42,8 %. Kehilangan BK substrat terkait dengan aktivitas metabolisme mikroorganisme yang terkait aktivitas degradasi BK (Widyahapsari et al. 2016).

Tabel 3 Kandungan BK (bahan kering) pada media fermentasi *Rhizopus oryzae* berdasarkan Cu dan lama fermentasi (hari)

Lama fermentasi (hari)	Dosis Cu (ppm)					Rataan
	0	500	1000	1500	2000	
(%).....					
0	45,0 ± 4,1	41,2 ± 0,6	41,4 ± 0,4	41,9 ± 2,0	44,2 ± 0,7	42,8 ± 2,4 ^c
1	40,6 ± 1,4	40,7 ± 1,5	41,5 ± 0,4	41,5 ± 1,2	42,3 ± 1,5	41,3 ± 1,3 ^b
2	40,3 ± 1,8	40,3 ± 2,5	41,3 ± 0,4	40,7 ± 1,6	42,2 ± 1,1	41,0 ± 1,6 ^b
3	40,2 ± 1,7	40,8 ± 2,6	39,4 ± 1,3	40,6 ± 1,0	40,8 ± 1,4	40,4 ± 1,6 ^{ab}
4	38,0 ± 1,0	39,8 ± 2,6	39,9 ± 1,2	39,8 ± 0,7	40,6 ± 0,9	39,6 ± 1,5 ^a
Rataan	40,8 ± 3,1	40,6 ± 1,9	40,7 ± 1,2	40,9 ± 1,4	42,0 ± 1,7	

Rataan dengan *superscript* yang berbeda pada baris atau kolom yang sama dengan berbagai huruf menunjukkan berbeda nyata (p<0,05).

Tabel 4 Kandungan Bahan organik (BO) pada media fermentasi *Rhizopus oryzae* berdasarkan Cu dan lama fermentasi

Lama fermentasi (hari)	Dosis Cu (ppm)					Rataan
	0	500	1000	1500	2000	
(%).....					
0	43,8 ± 4,0	40,4 ± 0,6	40,6 ± 0,3	41,0 ± 1,9	43,3 ± 0,7	41,8 ± 2,3 ^c
1	39,6 ± 1,5	39,5 ± 1,6	40,5 ± 0,5	40,3 ± 1,1	41,1 ± 1,6	40,2 ± 1,3 ^b
2	39,1 ± 1,9	39,4 ± 2,7	40,5 ± 0,4	39,8 ± 1,5	41,2 ± 1,1	40,0 ± 1,7 ^b
3	38,4 ± 2,3	39,4 ± 2,9	38,7 ± 1,3	39,7 ± 1,3	39,9 ± 1,3	39,2 ± 1,8 ^{ab}
4	36,9 ± 1,0	38,7 ± 2,6	39,0 ± 1,1	38,8 ± 0,6	39,5 ± 1,2	38,6 ± 1,6 ^a
Rataan	39,6 ± 3,2	39,5 ± 2,1	39,9 ± 1,1	39,9 ± 1,3	41,0 ± 1,7	

Rataan dengan *superscript* yang berbeda pada baris atau kolom yang sama dengan berbagai huruf menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Kandungan BK yang semakin menurun disebabkan perombakan media dengan terbentuknya air. Penurunan BK disebabkan perombakan komponen oleh jamur menjadi substrat (Sharma et al. 2020) dan pembentukan uap air (Toros et al. 2024).

Lama fermentasi berpengaruh nyata ($p < 0,05$) menurunkan kandungan BO. Faktor Cu tidak nyata pada BO serta tidak berinteraksi antar faktor (Tabel 4). Perlakuan lama fermentasi 4 hari berbeda nyata dengan perlakuan lama fermentasi 0 hari. Kandungan BO semakin menurun seiring lama fermentasi. Penyusutan media dipengaruhi oleh level Cu sebesar 39,5% - 41,0 % dan lama fermentasi sebesar 38,6-41,8 %. Kandungan BO memiliki korelasi dengan kandungan BK. Penurunan BO berkaitan dengan proses fermentasi menyebabkan perubahan BO media menjadi miselium *Rhizopus*, air, dan pengurangan bobot media. Fermentasi substrat mengubah BO dari substrat menjadi miselium jamur *P. ostreotus*, air, dan pengurangan biomassa substrat di CO₂ (Toros et al. 2024).

Degradasi BO yang semakin banyak akibat pertumbuhan miselium yang semakin cepat seiring lama fermentasi. Miselium mengeluarkan enzim untuk pemecahan karbohidrat, protein, dan lemak menjadi senyawa sederhana. Miselium mengeluarkan enzim yang memecahkan bahan pada tempe menjadi senyawa sederhana sebagai energi untuk sistem metabolisme sehingga miselium dapat cepat tumbuh (Lalhriatpui et al. 2024). Karbohidrat dan protein pada media menghasilkan inkorporasi yang tinggi, karena *Rhizopus*

oryzae akan berikatan dengan protein kapang dan metabolisme karbohidrat. Miselium yang banyak terbentuk akan menurunkan BO (Toros et al. 2024).

Interaksi antar faktor dosis Cu dan lama fermentasi terhadap kandungan abu menunjukkan adanya perbedaan ($p < 0,05$). Penyusutan media dipengaruhi oleh level Cu sebanyak 0,8% -1,2 % dan lama fermentasi sebesar 0,95-1,1 % (Tabel 5). Nilai kandungan abu tidak menunjukkan pola khusus dan terjadi peningkatan kandungan abu pada 0 dan 500 ppm dosis Cu pada lama fermentasi 3 hari. Peningkatan kandungan abu berkaitan dengan kondisi bahan baku media yang terkontaminasi dengan bahan lainnya. Kandungan abu berasal dari bahan-bahan yang memungkinkan munculnya tepung atau karbohidrat (Adikusuma & Sunaryadi 2021). Tepung tersebut memungkinkan adanya zat perusak. Semakin banyak abu menyebabkan banyaknya zat perusak yang memungkinkan tidak baik untuk dikonsumsi.

Derajat Keasaman (pH)

Aktivitas metabolisme mikroorganisme pada proses fermentasi diikuti dengan pertumbuhan miselium tergantung pH, suhu, tekanan, oksigen, dan substrat. Faktor mineral dan lama fermentasi terhadap pH media menunjukkan interaksi ($p < 0,05$). Penyusutan media dipengaruhi oleh level Cu sebesar 3,7-5,2 % dan lama fermentasi sebanyak 3,6-5,4 %. Namun pengaruh Cu terhadap pertumbuhan miselium belum menunjukkan batas yang jelas.

Tabel 5 Kandungan abu pada media fermentasi *Rhizopus oryzae* berdasarkan Cu dan lama fermentasi

Lama fermentasi (hari)	Dosis Cu (ppm)					Rataan
	0	500	1000	1500	2000	
(%).....					
0	1,1 ± 0,3 ^{bc}	0,8 ± 0,0 ^{ab}	0,8 ± 0,1 ^{ab}	0,9 ± 0,1 ^{abc}	0,9 ± 0,1 ^{abc}	0,96 ± 0,1
1	0,9 ± 0,3 ^{abc}	1,2 ± 0,3 ^{bc}	1,0 ± 0,2 ^{abc}	1,1 ± 0,4 ^{abc}	1,1 ± 0,2 ^{bc}	1,1 ± 0,3
2	1,2 ± 0,1 ^{bc}	0,9 ± 0,2 ^{abc}	0,7 ± 0,0 ^{ab}	0,8 ± 0,2 ^{ab}	0,9 ± 0,2 ^{abc}	0,95 ± 0,2
3	1,7 ± 0,7 ^d	1,3 ± 0,2 ^{cd}	0,6 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,3 ^{abc}	0,9 ± 0,1 ^{ab}	1,1 ± 0,5
4	1,0 ± 0,2 ^{abc}	1,1 ± 0,1 ^{abc}	0,9 ± 0,3 ^{ab}	0,9 ± 0,1 ^{abc}	1,0 ± 0,2 ^{abc}	1,0 ± 0,2
Rataan	1,2 ± 0,4 ^c	1,1 ± 0,2 ^{bc}	0,8 ± 0,2 ^a	0,9 ± 0,2 ^{ab}	1,0 ± 0,2 ^{ab}	

Rataan dengan *superscript* yang berbeda pada baris atau kolom yang sama dengan berbagai huruf menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Tabel 6 Derajat keasaman (pH) pada media *Rhizopus oryzae* berdasarkan Cu dan lama fermentasi

Lama fermentasi (hari)	Dosis Cu (ppm)					Rataan
	0	500	1000	1500	2000	
0	3,6±0,1 ^{abcd}	3,5±0,1 ^{ab}	3,0±0,0 ^a	3,4±0,1 ^a	3,3±0,1 ^a	3,4±0,1 ^a
1	4,4±0,2 ^{ef}	4,0±0,1 ^{bcde}	3,6±0,1 ^{abcd}	3,5±0,0 ^{ab}	3,4±0,1 ^a	3,8±0,4 ^b
2	5,2±0,2 ^{gh}	5,0±0,1 ^{gh}	4,5±0,3 ^f	4,0±0,2 ^{cde}	3,5±0,2 ^{abc}	4,4±0,6 ^c
3	6,1±0,3 ^{jk}	5,8±0,4 ^{ij}	5,7±0,2 ^{ij}	4,8±0,2 ^{fg}	4,0±0,2 ^{de}	5,3±0,8 ^d
4	6,5±0,2 ^k	6,2±0,1 ^{jk}	5,7±0,8 ^{ij}	5,4±0,5 ^{hi}	4,4±0,4 ^{ef}	5,6±0,8 ^e
Rataan	5,2±1,0 ^e	4,9±1,0 ^d	4,6±1,0 ^c	4,2±0,8 ^b	3,7±0,4 ^a	

Rataan dengan *superscript* yang berbeda pada baris atau kolom yang sama dengan berbagai huruf menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Karakteristik pH media cenderung meningkat seiring lama waktu fermentasi (Tabel 6). Nilai pH pada 0 hari fermentasi adalah asam (3,0-3,6). Nilai pH media meningkat seiring lama fermentasi dan dihasilkan pH yang mendekati netral pada perlakuan dosis mineral 0 ppm dengan lama fermentasi 3 dan 4 hari serta dosis mineral 500 ppm dengan lama fermentasi 4 hari. Kemasaman pH media pada 0 hari berkaitan dengan proses perendaman yang bertujuan untuk mengkondisikan kedelai dapat tumbuh jamur atau terfermentasi dengan baik. Selain itu, pH asam pada 0 hari mengindikasikan bahwa media tidak terkontaminasi oleh bakteri penyakit dan pembusuk sehingga media dapat terfermentasi dengan optimal. Peningkatan pH mendekati netral berkaitan dengan meningkatnya degradasi protein yang ditandai tumbuhnya miselium untuk proses metabolisme *Rhizopus oryzae*.

Protein yang terurai menjadi asam amino mudah tercerna oleh kapang yang menghasilkan enzim seperti amilase, protease, lipase, dan pektinase. Kapang akan terus menguraikan protein diikuti dengan penurunan BK selama proses fermentasi menghasilkan peptida dan amonia. Senyawa tersebut menyebabkan pH naik (Andarti & Wardani 2015). Peningkatan pH media memungkinkan adanya penyerapan Cu oleh *Rhizopus oryzae* dan gugus fungsional (karboksil, fosfat, dan amina) mampu menyerap logam. Inkorporasi Cr yang terserap oleh sel kapang disebabkan Cr organik dari *chelate* garam yang terlarut dengan asam amino yang terhidrolisis dalam Cr proteinat dan pikolinat (Astuti *et al.* 2006).

Penurunan pH terjadi akibat meningkatnya Cu yang diberikan. Pemberian Cu pada media berasal dari campuran senyawa CuSO_4 . Senyawa tersebut merupakan hasil reaksi pengikatan Cu(OH)_2 bersifat basa lemah dengan H_2SO_4 bersifat asam kuat yang membentuk garam asam. Nilai pH pada larutan CuSO_4 31,2 mg L^{-1} (312 ppm) menghasilkan pH 2 (Nurohmah *et al.* 2019). Hal tersebut menyebabkan nilai pH rendah akibat tingginya Cu yang diberikan dan akan semakin meningkat apabila dosis yang diberikan semakin besar. *Rhizopus oryzae* pada pH 3,4-6 dapat tumbuh sangat baik

(Mukhoyaroh 2015) yang hal ini terjadi pada lama fermentasi 1-4 hari.

SIMPULAN

Karakteristik fermentasi *Rhizopus oryzae* pada media kedelai mengalami pertumbuhan semakin melambat seiring peningkatan Cu, tetapi belum jelas batas Cu maksimum. Peningkatan Cu nyata menurunkan pertumbuhan miselium, menurunkan penyusutan media kedelai, dan menurunkan nilai pH media fermentasi. Lamanya waktu fermentasi meningkatkan nilai pH, menurunkan Bahan Kering dan Bahan Organik, serta meningkatkan penyusutan media kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

- Adikusuma D & Sunaryadi. 2021. Kandungan gizi dan inkorporasi mineral Zn (seng) organik pada media yang berbahan dasar jagung. *Jurnal Inspirasi Peternakan*. 1(1):36-41. Doi: 10.36085/jinak.v1i1.1420.
- Amara AA & El-Baky NA. 2023. Fungi as a Source of Edible Proteins and Animal Feed. *Journal of Fungi* (. 9(1):73. Doi: [10.3390/jof9010073](https://doi.org/10.3390/jof9010073).
- Andarti IY & Wardani AK. 2015. Pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik kimia, mikrobiologi, dan organoleptic *miso* kedelai hitam (*Glycine max* (L)). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(3):889-898.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2005. *Official Methods of Analyses*. 17th ed. Washington (US): Association of Official Analytical Chemists.
- Astuti WD, Sutardi T, Evvyernie D & Toharat T. 2006. Inkorporasi kromium pada khamir dan kapang dengan substrat dasar singkong yang diberi kromium anorganik. *Media Peternakan*. 29(2):83-88.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional). 2022. Panduan Pengukuran pH dengan Teknik Kalibrasi Dua Titik: SNSU PK.K-01:2022. Direktorat Standar Nasional Satuan Ukuran Termoelektrik dan Kimia.
- Gorji A & Ghadiri M. 2021. Review: potential roles of micronutrient deficiency and immune system dysfunction in the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. *Nutrition*. 82:1-9. Doi: [10.1016/j.nut.2020.111047](https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.111047).
- Hidayat R & Fariyah AW. 2020. Identifikasi perubahan suhu udara dan curah hujan di Bogor. *Journal of Natural Resources and Environment Management* 10(4): 616-626. Doi: 10.29244/jpsl.10.4.616-626.
- Hill GM & Shannon MC. 2019. Copper and zinc nutritional issues for agricultural animal production. *Biological Trace Element Research*. 188:148-159 Doi: 10.1007/s12011-018-1578-5.
- Kurniawati L, Endang Kusdiyantini E & Wijanarka. 2019. Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Serratia marcescens*. *Jurnal Akademika Biologi*. 8 (1):1-9.

- Lalhriatpuii M, Chatterjee A, Das AK, Satapathy D, Dutta TK & Patra AK. 2024. Influence of dietary supplementation of inorganic and organic chromium on body conformation, carcass traits, and nutrient composition in muscle and internal organs of black bengal goats. *Biological Trace Element Research* 202(5):2062-2074. Doi: [10.1007/s12011-023-03811-z](https://doi.org/10.1007/s12011-023-03811-z).
- 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](https://doi.org/10.25273/florea.v2i2.415).
- Nurohmah L, Wulandari PA & Fathoni R. 2019. Kemampuan adsorpsi logam berat Cu dan Pb dengan menggunakan adsorben kulit jagung (*Zea Mays*). *Jurnal Chemurgy* 3(2):18-22. Doi: [10.30872/cmgy.v3i2.3579](https://doi.org/10.30872/cmgy.v3i2.3579).
- Oladipo O, Awotoye O, Olayinka A, Bezuidenhout C & Maboeta M. 2018. Heavy metal tolerance traits of filamentous fungi isolated from gold and gemstone mining sites. *Brazilian Journal of Microbiology*. 49(1):29-37. Doi: [10.1016/j.bjm.2017.06.003](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.06.003).
- Rahmi SL, Mursyid & Wulansari D. 2018. Formulasi tempe berbumbu serta pengujian kandungan gizi. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 7(1):57-65. Doi: [21776/ub.industria.2018.007.01.7](https://doi.org/10.21776/ub.industria.2018.007.01.7).
- Sada A, Sugijanto N & Poernomo A. 2021. Produksi enzim fibrinolitik tempe oleh *Rhizopus oryzae* FNCC 6078. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*. 8(1):1-6. Doi: [10.20473/bikfar.v8i1.31202](https://doi.org/10.20473/bikfar.v8i1.31202).
- Sey E & Belford E. 2021. Heavy metals tolerance potential of fungi species isolated from gold mine tailings in Ghana. *Journal of Environmental Health Sustainable Development*. 6(1):1231-1242. Doi: [10.18502/jehsd.v6i1.5765](https://doi.org/10.18502/jehsd.v6i1.5765).
- Sharma R, Garg P, Kumar P, Bhatia SK & Kulshrestha S. 2020. Microbial fermentation and Its role in quality improvement of fermented foods. *Fermentation* 6(4): 106; Doi: [10.3390/fermentation6040106](https://doi.org/10.3390/fermentation6040106).
- 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 Sciences*. 4(4):257-264.
- Steel R & Torrie J. 1993. *Principle and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach*. New York (US): McGraw-Hill Book Company.
- Tao S & Dahl G. 2013. Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science*. 96(7):4079-4093. Doi: [10.3168/jds.2012-6278](https://doi.org/10.3168/jds.2012-6278).
- Triyono M, Nazaruddin & Werdingasih W. 2017. Uji aktivitas inokulum tempe dari bahan limbah kulit pisang terhadap mutu tempe kedelai. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 3(1):200-206. Doi: [10.29303/profood.v3i1.43](https://doi.org/10.29303/profood.v3i1.43).
- Törös G, El-Ramady H, Béni Á, Peles F, Gulyás G, Czeplédi L, Rai M & Prokisch J. 2024. *Pleurotus ostreatus* Mushroom: A Promising Feed Supplement in Poultry Farming. *Agriculture*. 14(5):663. Doi: [10.3390/agriculture14050663](https://doi.org/10.3390/agriculture14050663).
- 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: Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian UGM* 36(3):253-260. Doi: [10.22146/agritech.16587](https://doi.org/10.22146/agritech.16587).