

Differences in Fermentation Media on Single Cell Protein (SCP) Production Using *Saccharomyces cerevisiae*

Perbedaan Media Fermentasi Terhadap Produksi Protein Sel Tunggal (PST) Menggunakan Kultur *Saccharomyces cerevisiae*

Yayuk Putri Rahayu ^{a*}, Haris Munandar Nasution ^a, Healthy Aldriany Prasetyo ^b

^a Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

^b Program Studi Sarjana Teknik Industri, Fakultas Teknik, Universitas Medan Area, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: yayukputri@umnu.ac.id

Abstract

Utilization of pineapple peel waste and tofu liquid waste can reduce environmental impacts and is an alternative fermentation medium containing cheap and easily obtained carbohydrate sources and has the potential for the growth of *Saccharomyces cerevisiae*. Single Cell Protein (SCP) is a protein derived from microbes such as yeast. The purpose of this study was to determine the differences between pineapple peel waste and tofu liquid waste with the addition of different nutrients to SCP production using *S. cerevisiae*. The research method was experimental. The independent variables were fermentation medium MK1 (pineapple peel waste; KH_2PO_4 ; sugar); MK2 (pineapple peel waste; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; sugar), MT1 (tofu liquid waste; KH_2PO_4 ; sugar); and MT2 (tofu liquid waste; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; sugar). The fermentation period was 0, 2, 4, and 6 days. The dependent variables were protein content, cell dry weight, glucose content, pH and temperature. The results of the SCP production research obtained the highest percentage increase in protein content in MT2 media (tofu liquid waste; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; sugar) was 33.33% (day-2, increase in dry cell weight 84.90%), followed by MK2 media (pineapple peel waste; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; sugar) was 13.15% (day-4, increase in dry cell weight 2.77%). The conclusion is that from both pineapple peel waste and tofu liquid waste substrates, the best PST production was obtained with the highest protein content in MT2 (tofu liquid waste media with the addition of KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; and sugar).

Keywords: single cell protein (PST), pineapple peel waste, tofu liquid waste, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation

Abstrak

Pemanfaatan limbah kulit nanas dan limbah cair tahu dapat mengurangi dampak lingkungan dan merupakan alternatif media fermentasi yang mengandung sumber karbohidrat yang murah dan mudah diperoleh serta memiliki potensi bagi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*. Protein Sel Tunggal (PST) merupakan protein yang berasal dari mikroba seperti khamir. Tujuan penelitian untuk mengetahui perbedaan limbah kulit nanas dan limbah cair tahu dengan penambahan nutrisi yang berbeda terhadap produksi PST menggunakan *S. cerevisiae*. Metode penelitian adalah eksperimental. Variabel bebas yaitu medium fermentasi MK1 (limbah kulit nanas; KH_2PO_4 ; gula); MK2 (limbah kulit nanas; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; gula), MT1 (limbah cair tahu; KH_2PO_4 ; gula); dan MT2 (limbah cair tahu; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; gula). Lama fermentasi hari ke-0, 2, 4, dan 6. Variabel terikat yaitu kadar protein, berat kering sel, kadar glukosa, pH dan suhu. Hasil penelitian produksi PST diperoleh persentase peningkatan kadar protein tertinggi pada media MT2 (limbah cair tahu dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) sebesar 33,33% (hari-2, peningkatan berat kering sel 84,90%), diikuti media MK2 (limbah kulit nanas dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) sebesar 13,15% (hari ke-4, peningkatan berat kering sel 2,77%). Kesimpulannya dari kedua substrat limbah kulit nanas dan

limbah cair tahu diperoleh produksi PST terbaik dengan kadar protein tertinggi pada media MT2 (limbah cair tahu dengan penambahan KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; dan gula).

Kata kunci: protein sel tunggal (PST), limbah kulit nanas, limbah cair tahu, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentasi



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 06/01/2025,
Revised: 28/04/2025
Accepted: 28/04/2025,
Available Online: 28/04/2025.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.846>

Pendahuluan

Protein sel tunggal (PST) merupakan protein yang berasal dari mikroorganisme berupa sel kering atau biomassa mikroorganisme seperti khamir, kapang, bakteri, dan ganggang yang dapat digunakan sebagai sumber protein untuk pangan dan pakan. Dalam pembuatan PST selain jasad renik (mikroorganisme) dengan daya rombak yang kuat, komposisi bahan dasar atau substrat media fermentasi, lama proses fermentasi yang digunakan juga akan menentukan produk PST yang dihasilkan. Pemanfaatan limbah seperti limbah kulit nanas dan limbah cair tahu belum banyak dimanfaatkan menjadi produk yang bernilai dan hanya dibuang sehingga akan menimbulkan masalah atau pencemaran lingkungan. Salah satu alternatif pemanfaatan dari limbah kulit nanas dan limbah cair tahu yaitu dengan fermentasi menggunakan mikroba untuk memproduksi protein dari mikroba. Penelitian sebelumnya yang dilakukan Adi *et al.* (2019) produksi protein sel tunggal (PST) menggunakan nanas sebagai media fermentasi dengan kultur *Aspergillus niger* dimana perlakuan terbaik adalah pada perlakuan P1 dengan peningkatan protein kasar sebesar 41,48% dari protein kasar P0 (6,75%) menjadi P1 (9,55%). Peningkatan ini diduga terjadi karena kapang mampu menggunakan bagian dari substrat untuk pertumbuhan dan pembentukan protein mikroba selama proses fermentasi dengan sempurna [1]. Demikian juga pada penelitian Maryana *et al.*, (2016) [2] menggunakan limbah cair tahu dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikroba menggunakan kultur *Rhizopus oryzae* dalam produksi PST dengan hasil kadar protein tertinggi diperoleh pada waktu inkubasi ke-48 jam (2 hari) dengan persentase kenaikan rata-rata kadar protein sebesar 25% (dari 0,22% menjadi 0,47%).

Berdasarkan latar belakang maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan substrat media fermentasi dari limbah kulit nanas dan limbah cair tahu dengan penambahan nutrisi KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; gula menggunakan kultur *Saccharomyces cerevisiae* terhadap produksi PST.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah kota Medan, Indonesia. Variabel bebas yaitu media fermentasi MK1 (limbah kulit nanas; KH_2PO_4 ; gula); MK2 (limbah kulit nanas; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; gula), MT1 (limbah cair tahu; KH_2PO_4 ; gula); dan MT2 (limbah cair tahu; KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; gula). Lama fermentasi hari ke-0, 2, 4, dan 6. Variabel terikat yaitu kadar protein, berat kering sel, kadar glukosa, pH dan suhu.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah inkubator, autoklaf, sentrifus, erlenmeyer, kawat ose, cling wrap, pisau cutter, timbangan, pH meter, erlenmeyer, corong, *laminar air flow*, panci *stainless steel*, *refractometer*, cawan porselein, pipet, batang pengaduk, spatula, gelas ukur, termometer dan blender.

Bahan yang digunakan adalah limbah kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr), limbah cair tahu, biakan murni khamir *Saccharomyces cerevisiae*, KH_2PO_4 0,1%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1%, gula pasir (sukrosa), selenium, asam sulfat pekat, NaOH 30%, asam klorida 0,1 N, H_3BO_3 3% dan aquadest.

Formulasi Media Fermentasi

Penyiapan media fermentasi mengikuti Napitupulu *et al.*, (2024) dan Harahap *et al.*, (2024) Limbah kulit nanas dicuci dengan air mengalir dan dihindurkan dengan blender hingga halus kemudian disaring hingga diperoleh filtrat kulit nanas[3][4]. Filtrat kulit nanas dipanaskan pada suhu 100 °C selama 15-30 menit [5; 6]. Kemudian didinginkan hingga suhu ruang. Sedangkan limbah cair tahu disaring dan dipasteurisasi pada suhu 60 °C selama 30 menit. Formulasi media fermentasi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Formulasi media fermentasi limbah kulit nanas dan limbah cair tahu

Komposisi	Formulasi Media Fermentasi			
	MK1	MK2	MT1	MT2
KH_2PO_4	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	--	0,1%	--	0,1%
Gula	2%	2%	2%	2%
Limbah Kulit Nanas	ad 200 mL	ad 200 mL	--	--
Limbah Cair Tahu	--	--	ad 200 mL	ad 200 mL

Keterangan: MK1 = limbah kulit nanas + KH_2PO_4 + gula; MK2 = limbah kulit nanas + KH_2PO_4 + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + gula; MT1 = limbah cair tahu + KH_2PO_4 + gula; MT2 = limbah cair tahu + KH_2PO_4 + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + gula.

Pembuatan media fermentasi MK1 dan MT1 adalah dengan memasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer KH_2PO_4 0,1% (0,2 g) dan gula pasir 2% (4 g) dari 200 mL filtrat limbah kulit nanas/ limbah cair tahu. Kemudian ditambah NaOH hingga pH 5. Pembuatan media fermentasi MK2 dan MT2 adalah dengan memasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer KH_2PO_4 0,1% (0,2 g); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,1% (0,2 g); dan gula pasir 2% (4 g) dari 200 mL filtrat limbah kulit nanas/ limbah cair tahu. Kemudian ditambah NaOH hingga pH 5. Semua media dipanaskan pada suhu 100 °C selama 15-30 menit, kemudian didinginkan dengan cara dibiarkan pada suhu ruang [7].

Regenerasi Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

Sebanyak satu koloni khamir *S. cerevisiae* diambil dengan menggunakan jarum ose steril, lalu ditanam pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Diinkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 36 °C.

Penyiapan suspensi *Saccharomyces cerevisiae*

Pembuatan suspensi *S. cerevisiae* dilakukan dengan menggunakan larutan fisiologis (NaCl 0,9%). Suspensi dibuat dengan cara beberapa ose kultur khamir *S. cerevisiae* dimasukkan kedalam NaCl fisiologis 0,9% lalu divortex hingga homogen. Hasilnya diperoleh suspensi *S. cerevisiae* $\text{OD}_{600} = 0,5$ atau sekitar 4×10^8 CFU/mL [8].

Pembuatan starter *Saccharomyces cerevisiae*

Pembuatan starter mengikuti Rahayu, (2018) [9]; dan Rahayu *et al.*, (2020) [10]. Diambil dari masing-masing media fermentasi MK1, MK2, MT1, dan MT2 sebanyak 10% (v/v) dari 200 ml yaitu 20 mL dan dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer starter. Selanjutnya diambil suspensi *S. cerevisiae* $\text{OD}_{600} = 0,5$ sebanyak 5% (v/v) dari media starter 20 ml yaitu 1 ml dimasukkan ke dalam masing-masing media starter MK1, MK2, MT1, dan MT2. Kemudian diinkubasi selama 2 hari pada suhu 30 °C sambil sesekali diaduk agar homogen. Hingga diperoleh starter bakteri masing-masing media MK1, MK2, MT1, dan MT2.

Proses Fermentasi

Fermentasi dilakukan dengan menambahkan starter *S. cerevisiae* ke dalam masing-masing media fermentasi MK1, MK2, MT1, dan MT2, dan ditutup rapat, kemudian diinkubasi selama 6 hari dan dianalisis kadar protein, berat kering sel, kadar glukosa, pH dan suhu pada fermentasi pada hari ke-0, 2, 4, dan 6.

Analisis Kadar Protein

Analisis penentuan kadar protein ditentukan dengan metode Kjeldahl. Media fermentasi atau sampel ditimbang sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, kemudian ditambahkan asam sulfat pekat $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{P})}$ (95-97%) sebanyak 15 ml dan ditambahkan katalis yaitu tablet Kjeldahl berupa selenium sebanyak 0,2 g. Setelah itu dipanaskan di atas Kjeldahl apparatus sehingga diperoleh larutan berwarna bening kehijauan. Hasil dapat dilihat dengan perubahan warna larutan sampel menjadi bening kehijauan. Larutan tersebut kemudian didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu alas. Lalu ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml dan Natrium Hidroksida $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ 30% sampai pH menjadi basa. Kemudian didestilasi selama beberapa menit dan destilat yang diperoleh ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi H_3BO_3 3% dan indikator tashiro sehingga diperoleh larutan berwarna hijau. Larutan hijau yang diperoleh kemudian dititrasi dengan larutan standar $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ 0,1 N hingga sampel berubah warna menjadi larutan ungu. Volume HCl yang digunakan untuk titrasi dicatat dan dihitung. Kemudian dihitung kadar proteinnya [11]. Kadar protein dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut [4]:

$$\% \text{ P} = \frac{(\text{Vs} - \text{VB}) \times \text{N HCl} \times \text{BM Nitrogen} \times \text{Fk}}{\text{W} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan: P = protein; Vs = volume HCl 0,1 N dari titrasi sampel; VB = volume HCl 0,1 N dari titrasi blanko; N = normalitas HCl 0,1 N; BM Nitrogen = 14,007; Fk = faktor konversi (6,25); W = berat sampel (g).

Analisis Berat Kering Sel

Analisis biomassa sel merupakan perhitungan berat sel dengan metode berat kering. Cawan porselein dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit, lalu ditimbang untuk mengetahui beratnya. Perhitungan biomassa dilakukan dengan menentukan berat kering sel khamir. Sebanyak 1 mL media fermentasi (sampel) dimasukkan ke dalam sentrifus, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 5 menit hingga pelet (endapan) dan supernatan terpisah. Kemudian endapan sel khamir tersebut dimasukkan ke dalam cawan porselein kemudian di oven dengan suhu 100 °C selama 30 menit hingga diperoleh berat konstan. Kemudian didinginkan di suhu ruang dan ditimbang berat keringnya. Berat kering yang didapatkan dikurangi dengan berat kosong cawan porselein maka diperoleh biomassa sel kering khamir *S. cerevisiae* [12, 13].

Analisis Kadar Glukosa

Kadar glukosa yang terdapat pada media fermentasi diukur dengan alat refraktometer. Dipipet medium fermentasi dan diteteskan ke alat refraktometer sampai lensa indeks bias-nya tertutup. Kemudian dicatat kadar glukosanya.

Analisis pH dan Suhu

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

Hasil dan Diskusi

Hasil Analisis Kadar Protein

Perbedaan substrat media fermentasi filtrat limbah kulit nanas dan filtrat limbah cair tahu dengan penambahan mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan gula, menghasilkan kadar kadar protein yang berbeda. Hasil kadar protein dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis kadar protein pada media limbah kulit nanas dan limbah cair tahu

Fermentasi Hari ke-	Kadar Protein (%)			
	MK1	MT1	MK2	MT2
H0	0,43	0,55	0,56	0,39
H2	0,29	0,29	0,38	0,52
H4	0,35	0,35	0,43	0,27
H6	0,38	0,29	0,29	0,21

Keterangan: H0 = fermentasi hari ke-0; H2 = fermentasi hari ke-2; H4 = fermentasi hari ke-4; H6 = fermentasi hari ke-6.

Hasil penelitian ini diperoleh bahwa kedua media substrat fermentasi limbah kulit nanas dan limbah cair tahu dengan dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula dapat dijadikan substrat media fermentasi untuk produksi protein sel tunggal (PST) menggunakan kultur *Saccharomyces cerevisiae* dengan hasil kadar protein yang berbeda. Dari hasil penelitian ini diperoleh produksi PST dengan kadar protein tertinggi yaitu pada media fermentasi MT2 (limbah cair tahu dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula). Kadar protein tertinggi pada media fermentasi limbah cair tahu MT2 yaitu sebesar 0,52% (hari ke-2) diikuti dengan media fermentasi limbah kulit nanas MK2 yaitu sebesar 0,43% (hari ke-4) dengan penambahan nutrisi mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula.

Pada penelitian ini persentase peningkatan protein tertinggi pada media MT2 (limbah cair tahu dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) diperoleh sebesar 33,33% dari H0 (0,39%) menjadi H2 (0,52%). Sedangkan persentase peningkatan protein tertinggi pada media MK2 (limbah kulit nanas dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) diperoleh sebesar 13,15% dari H2 (0,38%) menjadi H4 (0,43%). Pada penelitian yang dilakukan Adi *et al.* (2019) produksi protein sel tunggal (PST) menggunakan nanas sebagai media fermentasi dan menggunakan kultur mikroba yang berbeda yaitu *Aspergillus niger* terjadi peningkatan protein kasar sebesar 41,48% dari protein kasar P0 (6,75%) menjadi P1 (9,55%) [1]. Peningkatan ini diduga karena menggunakan kultur mikroba yang berbeda dan substrat media yang berbeda, dimana kapang *Aspergillus niger* mampu menggunakan bagian dari substrat nanas untuk pertumbuhan dan pembentukan protein mikroba selama proses fermentasi dengan sempurna.

Demikian juga pada penelitian Maryana *et al.*, (2016) menggunakan limbah cair tahu dengan penambahan $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,1% dan gula pasir 2% [2]. Substrat ini dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikroba menggunakan kultur *Rhizopus oryzae* dalam produksi PST dengan hasil kadar protein tertinggi diperoleh pada waktu inkubasi ke-48 jam (2 hari) dengan kenaikan kadar protein sebesar 25% (dari 0,22% menjadi 0,47%).

Pada penelitian ini kadar protein pada media limbah kulit nanas dan media limbah cair tahu dengan penambahan mineral KH_2PO_4 dan gula saja cenderung lebih rendah dibandingkan dengan penambahan mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula. Kadar protein dengan penambahan mineral KH_2PO_4 dan gula pada media MK1 sebesar 0,38% (hari ke-6) dan media MT1 sebesar 0,35% (hari ke-4). Dalam hal ini penambahan mineral yang berbeda juga mempengaruhi hasil kadar protein. Dimana penambahan mineral KH_2PO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula lebih baik dalam peningkatan kadar protein pada produksi PST dibandingkan dengan penambahan mineral KH_2PO_4 dan gula saja (Gambar 1). Menurut Hezarjaribi *et al.*, (2016), peningkatan jumlah sel dan massa sel menandai adanya pertumbuhan mikroorganisme. Semakin tinggi kecepatan pertumbuhan semakin banyak jumlah massa sel [14]. Peningkatan protein diduga karena adanya penambahan protein yang disumbangkan oleh sel mikroba akibat pertumbuhannya yang menghasilkan produk PST atau biomassa sel yang mengandung sekitar 40-65% protein [15].

Berdasarkan data dari hasil penelitian ini kadar protein tertinggi diperoleh pada media fermentasi limbah cair tahu MT2 (0,52%) dibandingkan dengan limbah kulit nanas MK2 (0,43%). Hal ini dikarenakan media limbah cair tahu memiliki kandungan nutrisi yang lebih baik dibandingkan dengan limbah kulit nanas. Hal ini berhubungan dengan ketersediaan nutrisi mineral di dalam media fermentasi. Menurut Hezarjaribi *et al.*, (2016), semakin baik nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, maka pertumbuhan sel semakin cepat yang akan meningkatkan massa sel dan kadar protein sel. Selain itu, kadar protein sel dipengaruhi oleh waktu pembiakan [14]. Menurut Kuswardani & Wijajaseputra (1998) waktu pembiakan yang terlalu singkat akan menghasilkan PST dalam jumlah rendah karena biokonversi komponen media belum optimal. Sedangkan waktu pembiakan yang terlalu lama akan menyebabkan penurunan protein yang terakumulasi dalam PST akibat autolisis untuk memenuhi kebutuhan energinya sehubungan dengan ketersediaan nutrisi dalam media yang semakin tidak mencukupi [16].

Semua strain *S. cerevisiae* dapat tumbuh secara aerob pada glukosa, maltosa, dan trehalosa dan sulit tumbuh pada laktosa dan selobiosa. Kemampuan ragi untuk menggunakan gula yang berbeda tergantung pada kondisi lingkungan apakah aerob atau anaerob. Banyak protein penting dalam sistem biologis manusia ditemukan pertama kali pada ragi ketika dipelajari homolognya; protein tersebut antara lain protein-protein yang berperan dalam siklus sel, protein-protein pensinyalan, dan enzim-enzim pemrosesan protein [17].

Pada penelitian ini kadar protein tertinggi dengan penambahan nutrisi mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula pada media fermentasi limbah cair tahu MT2 diperoleh sebesar 0,52%, dan pada limbah kulit nanas MK2 sebesar 0,43% dibandingkan dengan kadar protein pada media fermentasi yang hanya diberi penambahan mineral KH_2PO_4 dan gula saja yaitu media MK1 (0,38%) dan MT1 (0,35%). Penambahan nutrisi mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula pada media fermentasi limbah kulit nanas MT2 dan limbah cair tahu MK2 dapat meningkatkan kadar protein menjadi lebih tinggi. Menurut Hakim (2007), fungsi nutrisi KH_2PO_4 pada fermentasi produksi protein sel tunggal ialah sebagai sumber fosfat sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan kepadatan sel pada awal kultivasi. Fungsi nutrisi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ pada fermentasi produksi protein sel tunggal ialah sebagai sumber nitrogen anorganik yang murah dan mengatur proses pertumbuhan [18]. Gula pada fermentasi produksi protein sel tunggal ialah sebagai sumber karbon memberikan energi untuk meningkatkan biomassa sel [27].

Hasil Analisis Berat Kering Sel

Perbedaan substrat media fermentasi filtrat limbah kulit nanas dan filtrat limbah cair tahu dengan penambahan mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan gula, menghasilkan perbedaan terhadap berat kering sel *S. cerevisiae*. Hasil kadar berat kering sel *S. cerevisiae* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis berat kering sel *S. cerevisiae* pada media limbah kulit nanas dan limbah cair tahu

Fermentasi Hari ke-	Berat Kering Sel <i>S. cerevisiae</i> (g)			
	MK1	MT1	MK2	MT2
H0	0,827	0,529	0,885	0,265
H2	0,774	0,286	0,828	0,490
H4	0,845	0,363	0,851	0,253
H6	0,817	0,253	0,814	0,158

Keterangan: H0 = fermentasi hari ke-0; H2 = fermentasi hari ke-2; H4 = fermentasi hari ke-4; H6 = fermentasi hari ke-6.

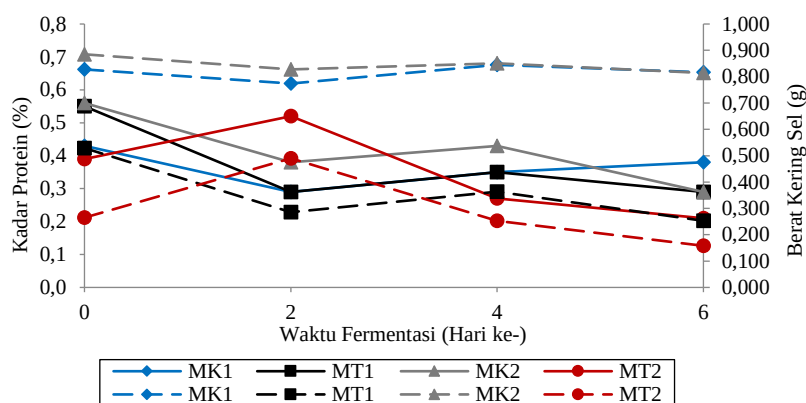
Hasil peningkatan berat kering sel tertinggi diperoleh pada media fermentasi MT2 (limbah cair tahu dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) yaitu sebesar 84,90% dari berat kering sel H0 (0,265 g) menjadi H2 (0,490 g). Sedangkan peningkatan berat kering sel pada media fermentasi MK2 (limbah kulit nanas dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) yaitu sebesar 2,77% dari berat kering sel H2 (0,828 g) menjadi H4 (0,851 g). Berat kering sel dipengaruhi oleh media pertumbuhan. Selain pengaruh perbedaan substrat media fermentasi dan penambahan nutrisi, lama fermentasi juga berpengaruh terhadap berat kering sel khamir *S. cerevisiae*. Lama fermentasi hari ke-0, 2, 4, dan 6 menghasilkan perbedaan hasil terhadap berat kering sel. Semakin lama fermentasi, berat kering sel yang dihasilkan cenderung meningkat dan kemudian menurun setelah melewati waktu optimum. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Adi *et al.* (2019) produksi protein sel tunggal (PST) menggunakan nanas sebagai media fermentasi dan menggunakan kultur mikroba yang berbeda yaitu *Aspergillus niger* terjadi penurunan berat kering sel sebesar 32,58% dari berat kering sel P0 (40,15%) menjadi P1 (32,77%) [1]. Dan terus menurun seiring lama waktu fermentasi pada P2. Sedangkan pada penelitian Maryana *et al.*, (2016) menggunakan limbah cair tahu dengan penambahan $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,1% dan gula pasir 2% menggunakan kultur *Rhizopus oryzae* dalam produksi PST dengan kenaikan berat kering sel sebesar 1,20% (dari 0,83 g menjadi 0,84 g) [2].

Berat kering sel yang dihasilkan selama proses fermentasi ditentukan oleh jumlah sel yang tumbuh. Semakin banyak jumlah sel yang dihasilkan, maka berat kering sel meningkat. Dalam produksi PST ini lama fermentasi dapat mengoptimalkan pertumbuhan sel khamir *S. cerevisiae* karena sel membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik yang ditandai dengan jumlah sel hidup lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sel yang mati, sehingga meningkatkan hasil berat kering sel [20]. Dalam penelitian ini hasil persentase peningkatan kadar protein cenderung sejalan dengan peningkatan berat kering sel yang dihasilkan (Gambar 1). Peningkatan berat kering sel (massa sel) inilah yang menghasilkan produk PST. Menurut

Kurniawan *et al.* (2016), bahwa proses fermentasi dapat menyebabkan terjadinya penurunan bahan kandungan organik dan penurunan berat kering sel disebabkan karena dimanfaatkan mikroba sebagai sumber energi dalam aktivitas mikroba [21].

Hasil Analisis Kadar Glukosa

Perbedaan substrat media fermentasi filtrat limbah kulit nenas dan filtrat limbah cair tahu dengan penambahan mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan gula, menghasilkan perbedaan kadar glukosa. Hasil kadar glukosa dapat dilihat pada tabel 4.



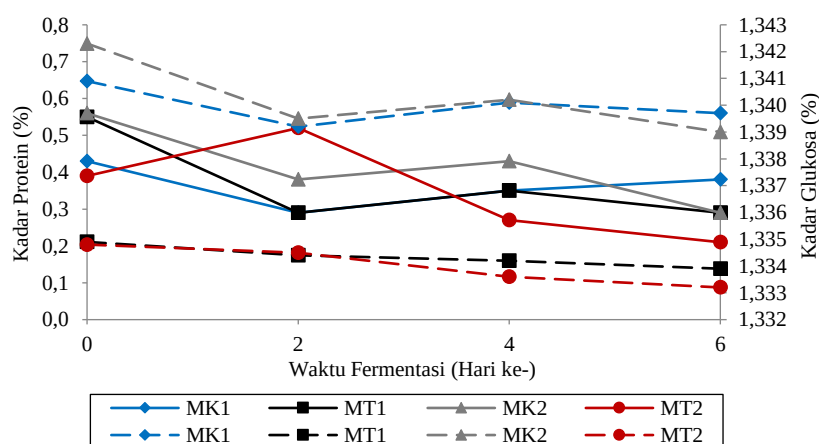
Keterangan: — = kadar protein (%); ---- = berat kering sel (g).

Gambar 1. Grafik lama fermentasi terhadap kadar protein dan berat kering sel *S. cerevisiae*.

Tabel 4. Hasil analisis kadar glukosa pada media limbah kulit nenas dan limbah cair tahu

Fermentasi Hari ke-	Kadar Glukosa (%)			
	MK1	MT1	MK2	MT2
H0	1,3409	1,3349	1,3423	1,3348
H2	1,3392	1,3344	1,3395	1,3345
H4	1,3401	1,3342	1,3402	1,3336
H6	1,3397	1,3339	1,3390	1,3332

Keterangan: H0 = fermentasi hari ke-0; H2 = fermentasi hari ke-2; H4 = fermentasi hari ke-4; H6 = fermentasi hari ke-6.



Keterangan: — = kadar protein (%); ---- = kadar glukosa (%).

Gambar 2. Grafik lama fermentasi terhadap kadar protein dan kadar glukosa

Hasil pengukuran kadar glukosa cenderung mengalami penurunan selama proses fermentasi (Gambar 2). *Saccharomyces cerevisiae* berkembang biak dengan membelah diri melalui “budding cell”. Yeast jenis ini mampu berkembang biak di dalam substrat yang mengandung gula sederhana seperti glukosa maupun gula kompleks disakarida seperti sukrosa. Pembelahan sel yang terjadi sangat cepat secara eksponensial cenderung mengalami penurunan kadar glukosa. Secara umum kadar glukosa terus mengalami penurunan karena dimanfaatkan oleh sel untuk tumbuh dan untuk membentuk produk berupa asam. Semakin banyak kadar glukosa yang dimanfaatkan maka kadar asam akan semakin meningkat.

Selama proses fermentasi *S. cerevisiae* menghidrolisis sukrosa (gula) menjadi glukosa dan fruktosa dengan bantuan enzim zimase yang berfungsi sebagai sumber karbon primer yang diserap melalui proses transfer aktif. Enzim zimase berfungsi sebagai pemecah sukrosa menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa) yang selanjutnya dimetabolisme untuk menghasilkan energi dan mensintesis bahan pembentuk sel sehingga diperoleh produk biomassa [13].

Pada proses fermentasi, *Sacharomyces cereviceae* menghasilkan enzim zimase dan invertase. Enzim zimase berfungsi sebagai biokatalis yang dapat mengubah glukosa dan fruktosa menjadi alkohol dan CO₂, sedangkan enzim invertase berfungsi mengubah sukrosa menjadi gula invert (glukosa dan fruktosa) [22]. Maka dari itu semakin lama fermentasi akan semakin rendah kadar glukosanya. Menurut (Muhammad *et al.*, (2017), semakin lama waktu fermentasi, maka kadar glukosa dalam proses fermentasi mengalami penurunan. Diduga aktivitas metabolisme mikroba dalam ragi mulai dibatasi dengan semakin bertambahnya alkohol [23].

Hasil Analisis pH Media Fermentasi

Perbedaan substrat media fermentasi filtrat limbah kulit nanas dan filtrat limbah cair tahu dengan penambahan mineral KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄, dan gula, terdapat perbedaan pH media fermentasi. Hasil analisis pH media fermentasi dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis pH pada media limbah kulit nanas dan limbah cair tahu

Fermentasi Hari ke-	Nilai pH			
	MK1	MT1	MK2	MT2
H0	5,0	5,0	5,0	5,0
H2	4,6	4,8	4,6	5,0
H4	4,4	4,7	4,5	4,5
H6	4,0	4,6	3,8	4,4

Keterangan: H0 = fermentasi hari ke-0; H2 = fermentasi hari ke-2; H4 = fermentasi hari ke-4; H6 = fermentasi hari ke-6.

Hasil analisis pH pada media fermentasi limbah kulit nanas dan limbah cair tahu menggunakan kultur *S. cerevisiae* selama hari ke-0, 2, 4, dan 6 terjadi perubahan pH media fermentasi karena pengaruh perlakuan penambahan nutrisi dan lama fermentasi (Gambar 3). Perlakuan penambahan nutrisi dan lama fermentasi menghasilkan perbedaan terhadap perubahan pH media fermentasi. Hal ini disebabkan sumber karbon dalam media mulai tidak mencukupi sehingga terjadi pembongkaran protein dalam media untuk aktivitas metabolismenya. Proses metabolisme tersebut akan menghasilkan metabolit-metabolit hasil degradasi protein seperti urea dan ion-ion amonium yang dapat menyebabkan perubahan pH [16].

Namun, perubahan pH selama fermentasi oleh *S. cerevisiae* masih dalam kisaran pH untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu 3,8 – 5,0 seperti terlihat pada tabel 5 di atas. Pawignya (2011) menyatakan bahwa pH untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* berkisar antara 3,5 – 5,5. Selain itu selama proses fermentasi juga terjadi penurunan pH media, hal ini disebabkan karena *S. cerevisiae* selama fermentasi mampu menghasilkan CO₂ dan metabolit sekunder seperti asam-asam organik [24]. Amerine dalam Wignyanto (2001) menyatakan bahwa perubahan pH selama fermentasi oleh *S. cerevisiae* disebabkan karena dalam aktivitasnya sel *S. cerevisiae* selain menghasilkan etanol sebagai metabolit primer dan juga menghasilkan asam-asam organik seperti asam malat, asam sitrat, asam asetat, asam tartarat, asam laktat, asam butirat dan asam propionate sebagai hasil sampingan. Asam-asam inilah yang berperan dalam menurunkan pH media [25].

Hasil Analisis Suhu Media Fermentasi

Perbedaan substrat media fermentasi filtrat limbah kulit nenas dan filtrat limbah cair tahu dengan penambahan mineral KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dan gula, terdapat perbedaan suhu media fermentasi. Hasil analisis suhu media fermentasi dapat dilihat pada tabel 6.

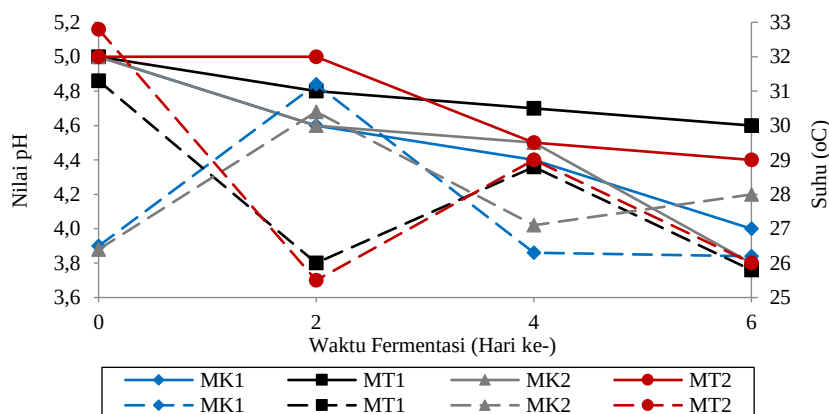
Tabel 6. Hasil analisis suhu pada media limbah kulit nenas dan limbah cair tahu

Fermentasi	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)			
Hari ke-	MK1	MT1	MK2	MT2
H0	26,5	31,3	26,4	32,8
H2	31,2	26,0	30,4	25,5
H4	26,3	28,8	27,1	29,0
H6	26,2	25,8	28,0	26,0

Keterangan: H0 = fermentasi hari ke-0; H2 = fermentasi hari ke-2; H4 = fermentasi hari ke-4; H6 = fermentasi hari ke-6.

Suhu mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Setiap spesies mempunyai rentang suhu yang ditentukan oleh sensitivitas sistem enzim terhadap panas. Suhu optimum yang dapat menunjang pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu berkisar antara 25 – 32 $^{\circ}\text{C}$. Pada tabel 6 di atas bahwa hasil pengukuran suhu mengalami kenaikan dan penurunan suhu yang berbeda tiap media fermentasi. Menurut Forsith (1963) [26], *S. cerevisiae* mempunyai suhu optimal untuk pertumbuhan mikroba. Suhu di bawah minimal dan di atas maksimal dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga tidak dapat tumbuh. Sebagian besar *S. cerevisiae* umumnya tumbuh baik pada kisaran suhu 25 – 46 $^{\circ}\text{C}$. Maka rata-rata suhu yang didapat yaitu antara 25,5 – 32,8 $^{\circ}\text{C}$ tidak menyebabkan pertumbuhan *S. cerevisiae* terhambat.

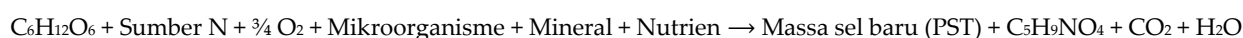
Hasil pengukuran pH dan suhu dapat dilihat pada grafik dibawah ini (Gambar 3). Di mana pH cenderung menurun selama fermentasi, sedangkan suhu relatif mengalami peningkatan dan penurunan yang berbeda selama fermentasi.



Keterangan: — = nilai pH; ---- = nilai Suhu ($^{\circ}\text{C}$).

Gambar 3. Grafik lama fermentasi terhadap nilai pH dan suhu

Penambahan nutrisi KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula pada media fermentasi limbah kulit nenas dan limbah cair tahu mempengaruhi hasil kadar protein, dimana hasil kadar protein pada media MT2 dan MK2 lebih tinggi dibandingkan kadar protein pada media MK1 dan MT1. Adapun persamaan reaksi produksi Protein Sel Tunggal (PST) pada proses fermentasi adalah sebagai berikut [27]:



Mikroorganisme yang dapat tumbuh pada media yang mengandung gula sebagai sumber karbon dalam pembuatan PST adalah yeast (ragi). Yeast yang digunakan untuk produksi PST dipilih berdasarkan laju pertumbuhannya yang cepat, kemudahannya dalam pemeliharaan kultur, kesederhanaan medis, kandungan protein, dan kualitas gizinya. Hal ini dikarenakan PST selain sebagai sumber protein juga diharapkan sebagai sumber vitamin B dan mineral [19].

Kemampuan tumbuh *S. cerevisiae* pada media limbah ini kemungkinan besar dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikroba baik bakteri, yeast, maupun kapang karena kandungan karbon, nitrogen, dan mineral yang masih tinggi. Selain itu, mikroba penghasil protein sel tunggal umumnya tumbuh pada limbah yang mengandung karbon, dan nitrogen yang tinggi [28, 29]. Jamur *S. cerevisiae* ini merupakan salah satu jenis jamur non-patogen yang dapat mengurai lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino, selain itu jamur ini juga mampu menghasilkan protease. Karena jamur ini bersifat aerob, oleh karena itu harus cukup mendapat oksigen agar dapat tumbuh optimal. Selain itu dalam keadaan aerob jamur ini dapat mengubah karbon, nitrogen, dan mineral sebagai nutrisi sehingga dapat menghasilkan protein sel tunggal [30].

Saccharomyces termasuk jenis ragi atau khamir yang merupakan genus dalam kerajaan jamur (fungi) yaitu spesies *Saccharomyces cerevisiae*. Ragi atau khamir *S. cerevisiae* merupakan mikroorganisme bersel tunggal atau terdiri dari satu sel tunggal (uniseluler) dan tidak membentuk hifa. Termasuk golongan jamur *Ascomycotina*. Reproduksi dengan membentuk tunas (*budding*) [31]. Setiap sel memiliki kemampuan untuk mengalami pertumbuhan, memperbanyak diri, dan menghasilkan energi [32].

Saccharomyces cerevisiae dianggap sebagai mikroorganisme aman dan paling komersial saat ini. Sel *S. cerevisiae* dapat tumbuh pada media yang mengandung air gula dengan konsentrasi tinggi. *S. cerevisiae* merupakan golongan khamir yang mampu memanfaatkan senyawa gula yang dihasilkan oleh mikroorganisme selulolitik untuk pertumbuhannya. Spesies ini dapat memfermentasikan berbagai karbohidrat dan menghasilkan enzim invertase yang bisa memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa [33].

Temperatur pertumbuhan yang optimum untuk *S. cerevisiae* adalah 25 – 30°C dan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 4,5 – 5,5. Beberapa kelebihan *S. cerevisiae* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme ini cepat memperbanyak diri, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Pertumbuhan *S. cerevisiae* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber karbon, unsur N yang diperoleh dari penambahan urea, amonium dan pepton, mineral dan vitamin [34].

Fermentasi merupakan suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Nutrien yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba, sedangkan nutrien lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah lebih sedikit daripada karbohidrat [35].

Penurunan Protein Kasar (PK) pada proses fermentasi ini disebabkan karena pada fermentasi hari ke-6 pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* sudah pada fase kematian (*death phase*) sehingga mengalami lisis dan protein yang terkandung di dalam selnya terurai menjadi non-protein misalnya berupa amonia, hal ini menyebabkan kadar PK dari produk fermentasi menjadi turun. Idiawati *et al.*, (2014) [36] mengatakan bahwa aktivitas enzim selulase akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Akan tetapi, terjadi pula penurunan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi karena konsentrasi substrat mulai menurun, sehingga menyebabkan laju pertumbuhan menurun. Hal ini juga sesuai dengan Wina (2005) bahwa terjadinya penurunan protein disebabkan oleh adanya degradasi protein selama proses penyimpanan karena aktivitas mikroba dan larut dalam air. Mikroba yang menyebabkan penurunan protein adalah jenis proteolitik [37]. Protein akan dirombak oleh mikroba proteolitik menjadi asam amino dan NH₃ selama proses fermentasi sehingga akan mengakibatkan penurunan protein.

Peningkatan PK pada perlakuan yang terjadi selama proses fermentasi berlangsung dipengaruhi oleh adanya protein yang disumbangkan oleh tubuh mikroba akibat pertumbuhan. Menurut Anggorodi (2005) bahwa kandungan protein kasar setelah fermentasi sering mengalami peningkatan yang disebabkan karena mikroba mempunyai pertumbuhan dan perkembangbiakan yang baik, dapat mengubah lebih banyak komponen penyusun yang berasal dari tubuh mikroba itu sendiri yang akan meningkatkan kandungan protein kasar dari substrat [38]. Meningkatnya kandungan protein kasar disebabkan karena bakteri berkembangbiak pada ransum ruminansia. Protein kasar yang terkandung dalam bakteri yaitu 60% [39], oleh sebab itu bakteri yang berkembang biak dalam ransum ruminansia dapat meningkatkan protein kasar dalam ransum tersebut.

Protein sel tunggal merupakan produk biomassa berkadar protein tinggi yang berasal dari mikroba. Mikroba penghasil protein sel tunggal umumnya tumbuh pada limbah yang memiliki unsur karbon dan nitrogen yang biasanya terdapat dalam limbah hasil industri. Komponen utama protein sel tunggal adalah asam amino dan mineral. Protein sel tunggal dapat digunakan sebagai pengganti protein dari sumber

konvensional seperti hasil pertanian, perikanan, dan peternakan. Selain itu, protein sel tunggal dapat menghasilkan makanan yang sangat bergizi yang disebut sebagai mycoprotein [28, 29].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa: (1) Kedua media substrat fermentasi limbah kulit nenas dan limbah cair tahu dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula dapat dijadikan substrat media fermentasi untuk produksi protein sel tunggal (PST) menggunakan kultur *Saccharomyces cerevisiae* dengan hasil kadar protein yang berbeda, (2) Produksi PST terbaik dengan kadar protein tertinggi diperoleh pada media fermentasi MT2 (limbah cair tahu dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) dengan persentase peningkatan kadar protein sebesar 33,33% (hari-2, peningkatan berat kering sel 84,90%), dibandingkan dengan media MK2 (limbah kulit nenas dengan penambahan KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan gula) sebesar 13,15% (hari-4, peningkatan berat kering sel 2,77%).

Conflict of Interest

Semua penulis mengonfirmasi bahwa penelitian ini bebas dari konflik kepentingan. Penelitian dan penulisan artikel dilakukan secara independen, tanpa pengaruh eksternal, serta tidak ada kepentingan pribadi, keuangan, atau profesional yang memengaruhi objektivitas dan integritas penelitian.

Referensi

- [1] Adi, P. K., Siti, C., dan Mashudi. (2019). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Limbah Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) Terhadap Kualitas Fisik Dan Kandungan Nutrien Menggunakan *Aspergillus niger*
- [2] Maryana, L., Ana, S., & Nugrahani, .A., (2016). Produksi Protein Sel Tunggal Dari Kultur *Rhizopus oryzae* Dengan Medium Limbah Cair Tahu. Palu. Universitas Tadulako. Hal 134
- [3] Napitupulu, K. J., Rahayu, Y. P., Nasution, H. M., & Lubis, M. S. (2024). Produksi Protein Sel Tunggal dari Kultur *Saccharomyces cerevisiae* dengan Medium Limbah Kulit Nanas (*Ananas comosus* L. MERR). *OBAT: Jurnal Riset Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 2 (2), 230–250. <https://doi.org/10.61132/obat.v2i2.346>
- [4] Harahap, M., Rahayu, Y. P., Lubis, M. S., & Yuniarti, R. (2024). Produksi Protein Sel Tunggal dari Kultur *Saccharomyces cerevisiae* dengan Medium Limbah Cair Tahu. *Vitalitas Medis: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(2), 109-128.
- [5] Murari, C. S., da Silva, D. C. M. N., Schuina, G. L., Mosinahti, E. F., & Del Bianchi, V. L. (2019). Bioethanol production from dairy industrial coproducts. *BioEnergy Research*, 12, 112-122.
- [6] Ajayi, A. A., Lawal, B., Salubi, A. E., Onibokun, A. E., Oniha, M. I., & Ajayi, O. M. (2021, February). Pectinase production by *Aspergillus niger* using pineapple peel pectin and its application in coconut oil extraction. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 655, No. 1, p. 012014). IOP Publishing.
- [7] Somaye, F., Marizich., & Lale. (2008). *SingleCell Protein (SCP) Production from Uf Cheese When by Kluyveromyces Marxianus*. 18th National Congres on Food Technology. Iran. 16-18 oct
- [8] Lay, B. W. (1994). Analisis Mikroba Di Laboratorium. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada
- [9] Rahayu, Y. P. (2018). Uji Aktivitas Lipase dan Biosurfaktan dari Bakteri Keratinolitik
- [10] Rahayu, Y. P. dan Prasetyo, H. A. 2020. Uji Aktivitas Bakteri Keratinolitik Sebagai Penghasil Biosurfaktan (*Assay of Keratinolytic Bacterial Activity to Producing Biosurfactant*). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan* 2020;6(2):75-80 DOI: <http://dx.doi.org/10.33772/pharmauho.v6i2.12533>
- [11] Standar Nasional Indonesia (SNI), 1992. Cara Uji Makanan Minuman (SNI 01-2891-1992). Jakarta: BSN
- [12] Nasution, M. N., Feliatra., Irwan, E. (2021). "Analisis Pertumbuhan Protein Sel Tunggal (PST) dengan Media yang Berbeda". Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau. E-ISSN: 2721-8902. Vol. 26(1)
- [13] Prastujati, A. U., Hilmi, M., Khusna, A., Sjoifan, O., Natsir, M. H., & Talitha, S. U. (2022, March). Optimization of Single Cell Protein (SCP) Production using *Saccharomyces Cerevisiae* by Response

- Surface Methodology (RSM) on Cell Biomass and Protein Percentage. In *International Conference on Improving Tropical Animal Production for Food Security (ITAPS 2021)* (pp. 483-489). Atlantis Press.
- [14] Hezarjaribi, M., Ardestani, F., & Ghorbani, H. R. (2016). Single cell protein production by *Saccharomyces cerevisiae* using an optimized culture medium composition in a batch submerged bioprocess. *Applied biochemistry and biotechnology*, 179, 1336-1345.
- [15] Krisnan, R. (2005). The effect of application of tea waste (*Camellia sinensis*) fermented with *Aspergillus niger* on broiler. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*, 10(1), 1–5. <https://doi.org/10.14334/IITV.V10I1.470>
- [16] Kuswardani, I., & Widjajaseputra. (1998). Produksi Protein Sel Tunggal *Phanerochaete chrysosporium* Pada Media Limbah Cair Tahu yang Diperkaya : Kajian Optimasi Waktu Panen. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi. 604-613
- [17] Walker, L. J., Aldhous, M. C., Drummond, H. E., Smith, B. R. K., Nimmo, E. R., Arnott, I. D. R., & Satsangi, J. (2004). Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies (ASCA) in Crohn's disease are associated with disease severity but not NOD2/CARD15 mutations. *Clinical & Experimental Immunology*, 135(3), 490-496
- [18] Hakim, K., 2007, Pengaruh Penambahan Ammonium Sulfat Terhadap Produksi Etanol pada Fermentasi Umbi singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) dengan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae*, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- [19] Muljono, C.L., 1981, "Growth of Microorganism in Biotechnology", Verlag, Chemie, Weinheim
- [20] Masithoh, E. 2012. "Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Khamir Roti *Saccharomyces cerevisiae* pada Media Bekatul dalam Produksi Protein Sel Tunggal". Jurusan Biologi, Universitas Sebelas Maret
- [21] Kurniawan, H. (2016). Kualitas nutrisi ampas kelapa (*cocos nuficena*) fermentasi menggunakan *aspergillus niger*. *Buletin Peternakan*, 40(1), 26–33. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternakan.v40i1.9822>
- [22] Poedjiadi, Anna dan F. M. Titin Supriyanti. (2006). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta. UI-Press
- [23] Muhammad *et al*, 2017. "Kajian Lama Fermentasi Terhadap Konsentrasi Glukosa Dan Alkohol Pada Pembuatan Tape Onggok". Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Semarang. E-ISSN: 16939115. Vol.12
- [24] Pawignya, H. 2011. Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi. Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri UPN "Veteran". ISSN 1693-4393 Yogyakarta
- [25] Wignyanto, S., Suharjono, D., dan Novita, A. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas Dan Inokulum *Saccharomyces Cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2(1): 68-77
- [26] Forsith, W.G.C V.C, Quesnel. 1963. *Mechanisme of Cocoa Cuning Advence in Enzimologist*. New York: Mc Graw Hill Book Co.
- [27] Cooney, C.L., 1981, "Growth of Microorganism in Biotechnology", Verlag, Chemie, Weinheim
- [28] Nigam, J.N. (1998). Single Cell Protein from Pineapple Cannery Effluent. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 14, 693-696
- [29] Batubara, U. M., 2009. Pembuatan Pakan Ikan dari Protein Sel Tunggal Bakteri Fotosintetik Anoksigenik dengan Memanfaatkan Limbah Cair Tepung Tapioka yang Diuji pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Skripsi. Departemen Biologi. USU: Medan
- [30] Marx, J.L. (1991). *Revolusi Bioteknologi*. Yayasan Obor Indonesia : Jakarta
- [31] Bahri, S., Aji, A., & Yani, F. (2019). Pembuatan bioetanol dari kulit pisang kepok dengan cara fermentasi menggunakan ragi roti. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 7(2), 85-100
- [32] Faridah, H. D., & Sari, S. K. (2019). Pemanfaatan mikroorganisme dalam pengembangan makanan halal berbasis bioteknologi. *Journal of Halal Product and Research*, 2(1), 33-43
- [33] Albus, L. L. F. (2014). *Isolasi khamir dari tetes tebu (Molase) dan potensinya dalam menghasilkan etanol* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim)
- [34] Umaiyyah, A. S., Chairul, C., & Yenti, S. R. (2014). *Fermentasi Nira Nipah Skala 50 Liter Menjadi Bioetanol Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae* (Doctoral dissertation, Riau University)
- [35] Azizah, N., Al-Barrii, A. N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3), 72–78
- [36] Idawati, N., Harfinda, E. M., & Arianie, L. (2014). Produksi enzim selulase oleh *aspergillus niger* pada ampas sagu. *Jurnal Natur Indonesia*, 16(1), 1–9

- [37] Wina, E. (2005). Teknologi pemanfaatan mikroorganisme dalam pakan untuk meningkatkan produktivitas ternak ruminansia di indonesia. Wartazoa, 15(4), 173–186
- [38] Anggorodi, R. (2005). Ilmu Makanan Ternak Umum. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- [39] Moran, J. (2005). Tropical Dairy Farming: Feeding Management for Small Holder Dairy Farmers in the Humid Tropics. Collingwood. Australia: Landlinks Press