

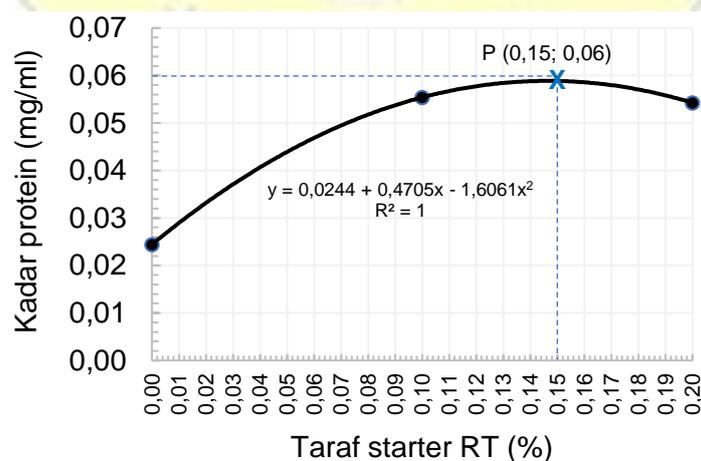
## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 TAHAP PERTAMA

Pengaruh taraf starter dan waktu inkubasi terhadap kadar protein, aktivitas protease, amilase, lipase, kitinase dan selulase dari ekstrak kasar enzim ragi tempe (RT) tersaji pada Tabel 16 dan probiotik lokal (PL) pada Tabel 17.

#### 5.1.1 Kadar Protein

Kadar protein ekstrak kasar enzim RT berkisar antara  $0,045 \pm 0,001$  sampai dengan  $0,062 \pm 0,010$  mg/ml. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap kadar protein ekstrak kasar enzim RT, namun taraf starter dan waktu inkubasi secara tunggal berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar protein ekstrak kasar enzim RT seperti tersaji pada Lampiran 2. Pengaruh tunggal taraf starter tersaji pada Gambar 19 dengan persamaan  $y = 0,0244 + 0,4705x - 1,6061x^2$  dan nilai koefisien determinasi 1. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,15%; 0,06 mg/ml). Pengaruh tunggal waktu inkubasi tersaji pada Gambar 20 dengan persamaan  $y = 0,0317 + 0,0097x - 0,0015x^2$  dan nilai koefisien determinasi 0,84. Waktu inkubasi mencapai optimum pada titik P (3,23 hari; 0,047 mg/ml) atau setara 77,52 jam. Hasil penelitian berbeda dengan Pratami et al. (2022) bahwa hidrolisis substrat tempe bengkok dengan RT menghasilkan kadar protein optimum sebesar 37,08 mg/ml pada taraf starter 0,20% dan waktu inkubasi 144 jam.



Gambar 19. Pengaruh taraf starter terhadap kadar protein ekstrak kasar enzim RT

Tabel 16. Taraf starter dan waktu inkubasi terhadap kadar protein dan aktivitas enzim hidrolitik ragi tempe (RT)

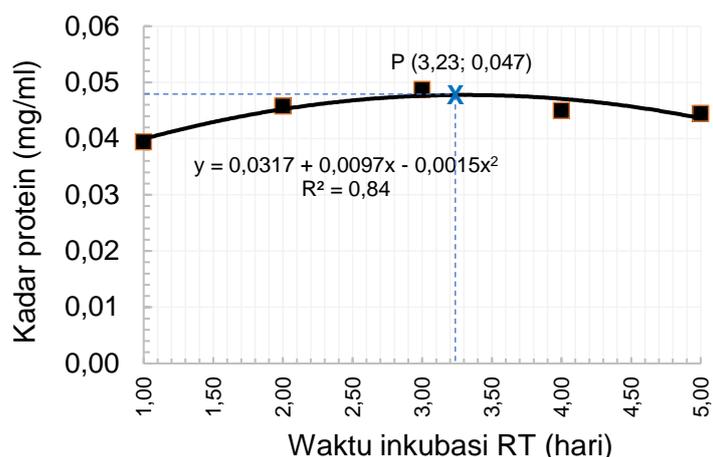
Parameter	Kontrol					0,10%					0,20%					Sig.		
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	S	T	S x T
Kadar protein (mg/ml)	0,021	0,026	0,026	0,025	0,024	0,045	0,059	0,062	0,056	0,055	0,052	0,053	0,058	0,054	0,054	**	*	ns
Aktivitas protease (U/mg/menit)	0,115	0,118	0,127	0,151	0,156	0,266	0,316	0,317	0,398	0,318	0,247	0,277	0,248	0,267	0,207	**	ns	ns
Aktivitas amilase (U/mg/menit)	0,122	0,155	0,144	0,142	0,119	0,158	0,252	0,163	0,137	0,069	0,211	0,259	0,144	0,120	0,048	ns	**	ns
Aktivitas lipase (U/mg/menit)	4,550	4,309	4,642	6,457	6,519	19,464	24,692	16,209	21,399	9,040	19,852	24,033	14,125	17,175	5,735	**	**	**
Aktivitas kitinase (U/mg/menit)	1,527	1,458	1,506	1,630	1,716	1,586	2,239	1,885	4,012	4,092	0,547	1,311	1,674	3,064	2,215	**	**	**
Aktivitas selulase (U/mg/menit)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	ns	ns	ns

Keterangan : S = taraf starter (0, 0,1; 0,2%), T = waktu inkubasi (1-5 hari), \* = berbeda nyata, \*\* = berbeda sangat nyata, ns = non signifikan

Tabel 17. Taraf starter dan waktu inkubasi terhadap kadar protein dan aktivitas enzim hidrolitik probiotik lokal (PL)

Parameter	Kontrol					0,10%					0,20%					Sig.		
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	S	T	S x T
Kadar protein (mg/ml)	0,021	0,026	0,026	0,025	0,024	0,043	0,056	0,042	0,041	0,041	0,048	0,063	0,039	0,039	0,035	**	**	**
Aktivitas protease (U/mg/menit)	0,115	0,118	0,127	0,151	0,156	0,154	0,146	0,155	0,211	0,169	0,153	0,129	0,217	0,242	0,219	**	**	ns
Aktivitas amilase (U/mg/menit)	0,122	0,155	0,144	0,142	0,119	0,234	0,254	0,175	0,211	0,102	0,173	0,196	0,222	0,226	0,180	*	ns	ns
Aktivitas lipase (U/mg/menit)	4,550	4,309	4,642	6,457	6,519	15,687	19,753	12,256	15,508	5,556	10,947	15,379	17,946	16,213	6,788	**	**	**
Aktivitas kitinase (U/mg/menit)	1,527	1,458	1,506	1,630	1,716	1,401	1,319	2,088	2,886	1,948	1,472	1,517	1,906	2,449	2,030	ns	ns	ns
Aktivitas selulase (U/mg/menit)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	ns	ns	ns

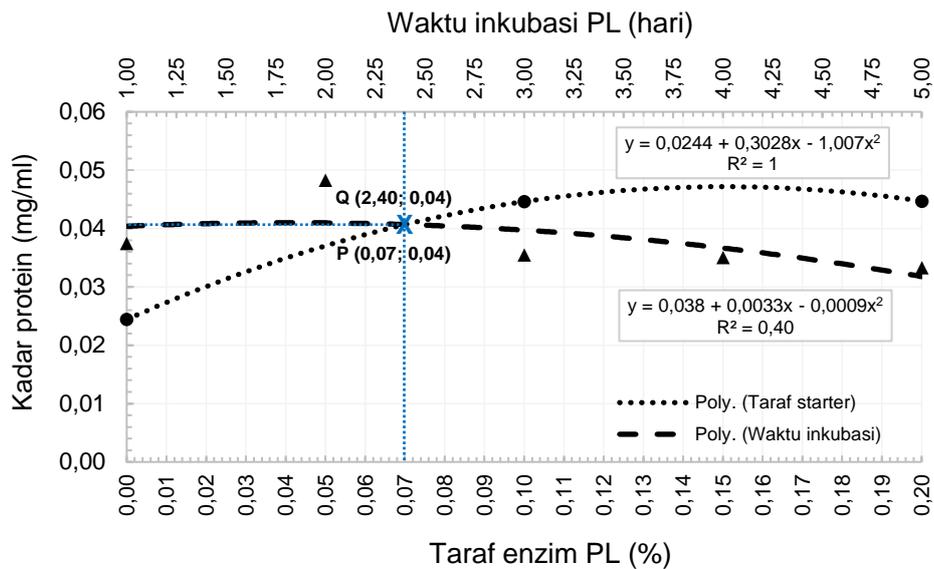
Keterangan : S = taraf starter (0, 0,1; 0,2%), T = waktu inkubasi (1-5 hari), \* = berbeda nyata, \*\* = berbeda sangat nyata, ns = non signifikan



Gambar 20. Pengaruh waktu inkubasi terhadap kadar protein ekstrak kasar enzim RT

Pengaruh tunggal taraf starter dan waktu inkubasi mempengaruhi kadar protein ekstrak kasar enzim RT. Meningkatnya taraf starter akan memberikan peluang bagi mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang lebih banyak. Menurut Montesqrit et al. (2020), semakin tinggi taraf starter yang digunakan, maka proses fermentasi berlangsung lebih cepat dan kadar protein meningkat sampai batas tertentu. Peningkatan kadar protein disebabkan oleh sekresi protein ekstraseluler dan enzim oleh mikroorganisme untuk proses metabolisme sel (Anigboro et al. 2022). Meningkatnya waktu inkubasi sampai batas tertentu menyebabkan pembelahan sel mikroorganisme meningkat. Selama waktu inkubasi, karbohidrat dalam substrat akan dihidrolisis sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikroorganisme dan menghasilkan protein kompleks, peptida dan asam amino bebas sehingga terjadi peningkatan kadar protein (Garcia et al. 2022). Seiring bertambahnya waktu inkubasi, kandungan nutrisi substrat menjadi semakin terbatas dan menurunkan laju pertumbuhan mikroorganisme, sehingga kadar protein menjadi menurun.

Kadar protein ekstrak kasar enzim PL berkisar antara  $0,035 \pm 0,003$  sampai dengan  $0,062 \pm 0,005$  mg/ml. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar protein ekstrak kasar enzim PL seperti tersaji pada Lampiran 4. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh secara kuadratik meningkatkan kadar protein ekstrak kasar enzim PL seperti tersaji pada Lampiran 5 dan Gambar 21. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,07%; 0,04 mg/ml), sedangkan waktu inkubasi mencapai optimum pada titik Q (2,40 hari; 0,04 mg/ml) atau setara 57,60 jam.



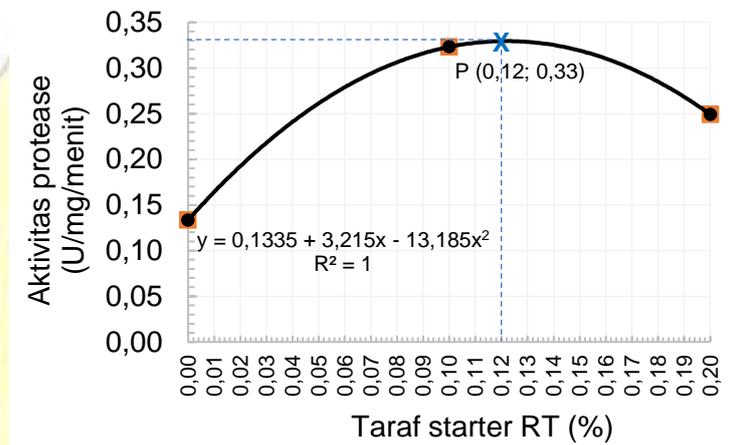
Gambar 21. Interaksi taraf starter dan waktu inkubasi terhadap kadar protein PL

Kadar protein PL menunjukkan perbedaan dengan Febriana et al. (2022) yang melakukan hidrolisis kulit ceker ayam dengan probiotik *Bacillus* sp. menghasilkan kadar protein 0,264-0,425 mg/ml pada taraf starter 10% selama 48 jam. Kadar protein substrat pisang yang dihidrolisis dengan kultur campuran bakteri asam laktat pada taraf 5% meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi dan optimum pada waktu 48 jam dengan kandungan protein sebesar 0,89 mg/ml (Budiari et al. 2020). Perbedaan kadar protein ekstrak kasar enzim dapat bervariasi tergantung pada jenis substrat, mikroorganisme, dan kondisi fermentasi yang digunakan.

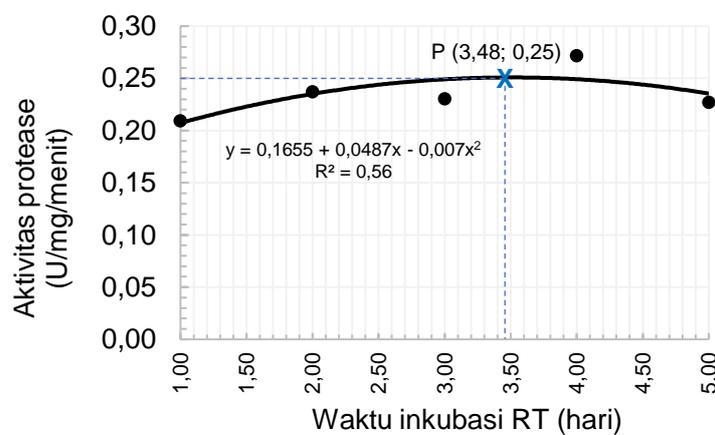
Interaksi taraf starter dan waktu inkubasi mempengaruhi aktivitas mikroorganisme PL. Menurut Devianti et al. (2023), aktivitas mikroorganisme akan optimal pada kondisi taraf starter yang tinggi dengan waktu inkubasi yang cepat, atau taraf starter yang rendah dengan waktu inkubasi yang lama. Taraf starter yang tinggi dengan waktu inkubasi yang cepat memungkinkan hidrolisis berjalan lebih cepat, sebab tersedia sumber daya yang cukup bagi mikroorganisme untuk berkembang biak. Taraf starter yang rendah dengan waktu inkubasi yang lama memberikan waktu yang cukup bagi mikroorganisme untuk berkembangbiak di media fermentasi. Pada akhirnya interaksi taraf starter dan waktu inkubasi yang tepat menghasilkan pembelahan sel mikroorganisme yang optimal, sehingga kadar protein PL dapat meningkat.

### 5.1.2 Aktivitas Protease

Aktivitas protease RT berkisar antara  $0,207 \pm 0,032$  sampai dengan  $0,398 \pm 0,101$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi, serta pengaruh waktu inkubasi secara tunggal berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap aktivitas protease RT. Akan tetapi, taraf starter secara tunggal berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap aktivitas protease RT seperti tersaji pada Lampiran 7. Pengaruh tunggal taraf starter tersaji pada Gambar 22 dengan persamaan  $y = 0,1335 + 3,215x - 13,185x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 1. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,12%; 0,33 U/mg/menit). Pengaruh tunggal waktu hidrolisis tersaji pada Gambar 23 dengan persamaan  $y = 0,1655 + 0,0487x - 0,007x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 0,56. Waktu inkubasi mencapai optimum pada titik P (3,48 hari; 0,25 U/mg/menit) atau setara 83,52 jam.



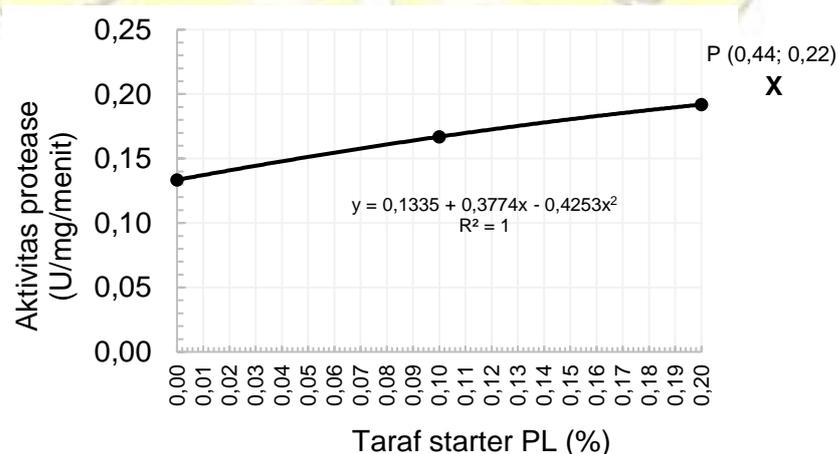
Gambar 22. Pengaruh taraf starter terhadap aktivitas protease RT



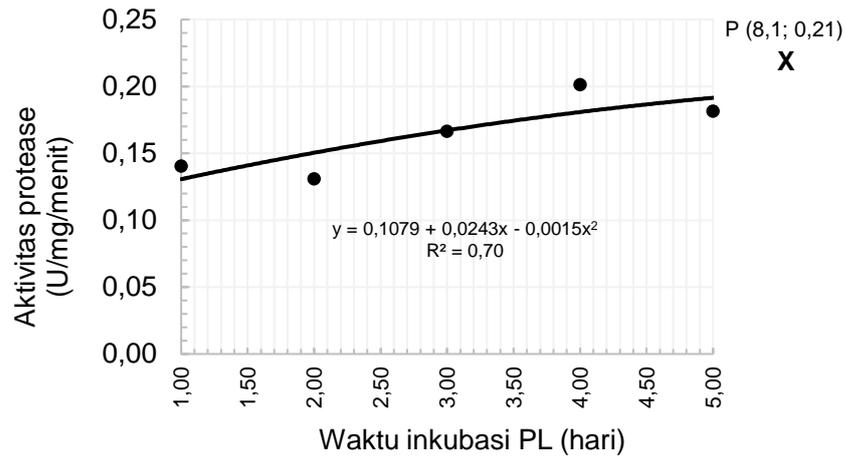
Gambar 23. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas protease RT

Aktivitas protease RT pada penelitian ini sesuai dengan Rahayu et al. (2019), yaitu tempe kedelai yang difermentasi dengan *Rhizopus oligosporus* taraf 0,2% mulai terdeteksi pada waktu inkubasi 24 jam yang ditandai dengan tumbuhnya jamur putih (miselia) dan optimum pada waktu 96 jam (0,046 U/ml), kemudian aktivitas protease menurun yang ditandai dengan munculnya spora berwarna hitam yang menandakan pembusukan dan penurunan pertumbuhan jamur. Handayani et al. (2020) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa hidrolisis kacang koro menggunakan RT *Rhizopus oligosporus* taraf 0,3% selama 48 jam menghasilkan aktivitas protease optimum sebesar 0,02 U/ml.

Aktivitas protease PL berkisar antara  $0,129 \pm 0,032$  sampai dengan  $0,242 \pm 0,055$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh tidak signifikan ( $P > 0,05$ ), namun taraf starter dan waktu inkubasi masing-masing secara tunggal berpengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) terhadap aktivitas protease PL seperti tersaji pada Lampiran 9. Pengaruh tunggal taraf starter tersaji pada Gambar 24 dengan persamaan  $y = 0,1335 + 0,3774x - 0,4253x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 1. Taraf starter terus mengalami peningkatan hingga mencapai optimum pada titik P (0,44%; 0,22 U/mg/menit). Pengaruh tunggal waktu hidrolisis tersaji pada Gambar 25 dengan persamaan  $y = 0,1079 + 0,0243x - 0,0015x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 0,70. Waktu inkubasi terus mengalami peningkatan hingga mencapai optimum pada titik P (8,10 hari; 0,21 U/mg/menit).



Gambar 24. Pengaruh taraf starter terhadap aktivitas protease PL



Gambar 25. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas protease PL

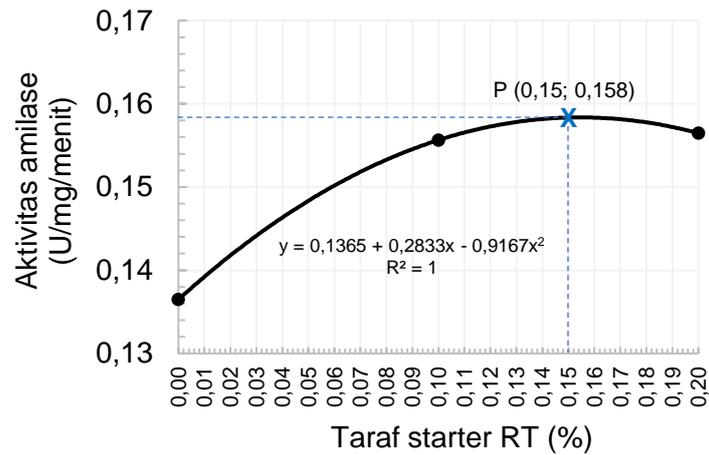
Aktivitas protease PL berbeda dengan hasil penelitian lain dengan substrat pertumbuhan yang berbeda. Hidrolisis substrat kasein oleh *Bacillus licheniformis* taraf 1% selama 48 jam menghasilkan aktivitas protease optimum sebesar 41 U/ml (Devi et al. 2020). *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan aktivitas protease optimum sebesar 59,93 U/ml pada substrat ampas tahu dengan taraf starter 10% dan waktu inkubasi 48 jam. *S. cerevisiae* dapat berkembang biak dalam waktu yang relatif cepat yaitu fase adaptasi (fase lag) 0-2 jam pertama, fase reproduksi dan pertumbuhan sel cepat (fase log) 2-10 jam, fase pertumbuhan seimbang dan kematian sel (fase diam) 10-14 jam dan fase kematian sel (fase mati) 14-24 jam (Arissirajudin et al., 2019).

Taraf starter berpengaruh terhadap aktivitas enzim mikroorganisme. Menurut Montesqrit et al. (2022), semakin tinggi taraf starter yang digunakan, maka semakin cepat proses hidrolisis berlangsung sehingga produksi enzim meningkat. Waktu inkubasi pun berpengaruh terhadap aktivitas enzim mikroorganisme. Menurut Alrumman et al. (2018), waktu inkubasi yang lebih lama memungkinkan mikroorganisme melakukan pembelahan sel lebih banyak, sehingga produksi enzim lebih optimal. Aktivitas protease PL terus meningkat seiring bertambahnya taraf starter dan waktu inkubasi. Artinya dalam waktu inkubasi lima hari, mikroorganisme PL belum optimum memanfaatkan protein yang terkandung di dalam substrat. Hal ini pun menandakan bahwa substrat *maggot* BSF 2% yang digunakan dalam penelitian ini memadai untuk taraf starter PL 0,1-0,2% dalam memproduksi enzim protease.

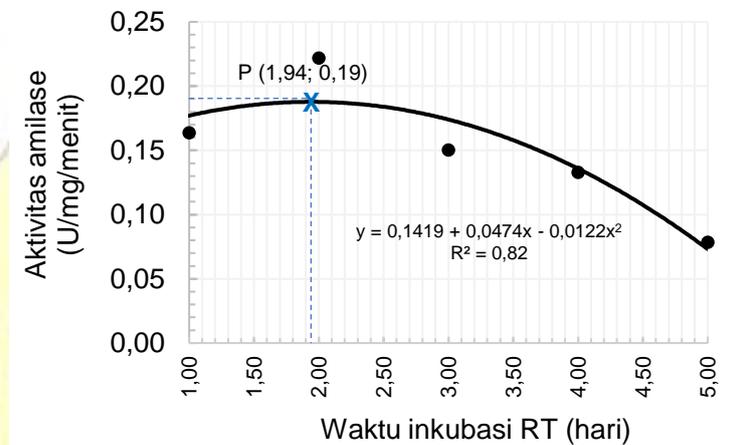
Aktivitas protease RT lebih tinggi daripada PL. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan perlekatan sel terhadap substrat. Menurut Mille (2005), bakteri terikat pada suatu substrat dengan cara menempel, sedangkan fungi berfilamen terikat pada suatu substrat dengan cara penetrasi hifa ke dalam substrat tersebut. Penetrasi hifa ke dalam substrat akan memperluas permukaan kontak antara RT dengan substrat, sehingga diduga produksi enzim lebih optimal dan aktivitas enzimnya lebih tinggi daripada PL. Aktivitas protease yang terdeteksi pada perlakuan kontrol dapat disebabkan oleh aktivitas enzim hidrolitik yang terdapat di saluran pencernaan *maggot* BSF yang digunakan sebagai media produksi enzim. Menurut Kim et al. (2021), ekstrak usus halus *maggot* BSF menunjukkan aktivitas *trypsin*, *leucine arylamidase*,  $\alpha$ -*galactosidase*,  $\beta$ -*galactosidase*,  $\alpha$ -*mannosidase*, dan  $\alpha$ -*fucosidase*. Disamping itu, penelitian Bonelli et al. (2020) menunjukkan bahwa isi usus *maggot* BSF terdeteksi aktivitas *trypsin* dan *chymotrypsin*. Enzim protease ini diproduksi oleh *maggot* BSF sebagai respons terhadap kandungan protein yang terdapat pada substrat tempat hidupnya.

### 5.1.3 Aktivitas Amilase

Aktivitas amilase RT berkisar antara  $0,048 \pm 0,006$  sampai dengan  $0,259 \pm 0,098$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi, serta pengaruh taraf starter secara tunggal berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap aktivitas protease RT. Akan tetapi, waktu inkubasi secara tunggal berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap aktivitas protease RT seperti tersaji pada Lampiran 11. Pengaruh tunggal taraf starter tersaji pada Gambar 26 dengan persamaan  $y = 0,1365 + 0,2833x - 0,9167x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 1. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,15%; 0,158 U/mg/menit). Pengaruh tunggal waktu hidrolisis tersaji pada Gambar 27 dengan persamaan  $y = 0,1419 + 0,0474x - 0,0122x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 0,82. Waktu inkubasi mencapai optimum pada titik P (1,94 hari; 0,19 U/mg/menit) atau setara 46,56 jam. Hasil penelitian berbeda dengan Freitas et al. (2014), yaitu RT *Rhizopus oligosporus* pada substrat tepung terigu menunjukkan aktivitas amilase optimum sebesar 3,71 U/ml pada taraf starter 0,2% dan waktu inkubasi 96 jam. Hidrolisis substrat onggok dengan RT *Rhizopus oryzae* pada taraf starter 0,7% dan waktu inkubasi 168 hari menghasilkan aktivitas amilase spesifik optimum sebesar 4,69 U/mg (Martgrita et al. 2023).



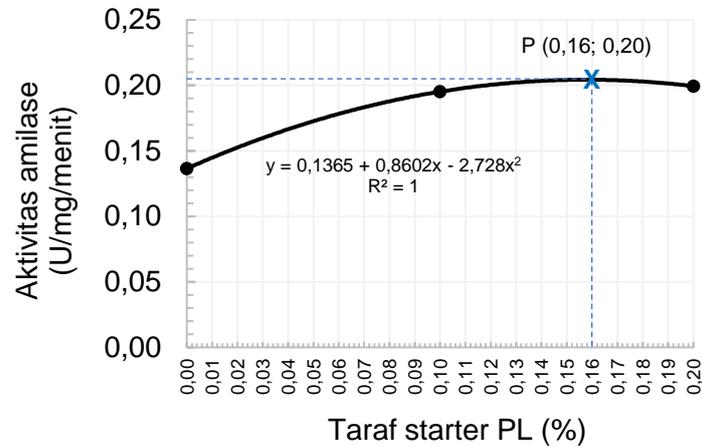
Gambar 26. Pengaruh taraf starter terhadap aktivitas amilase RT



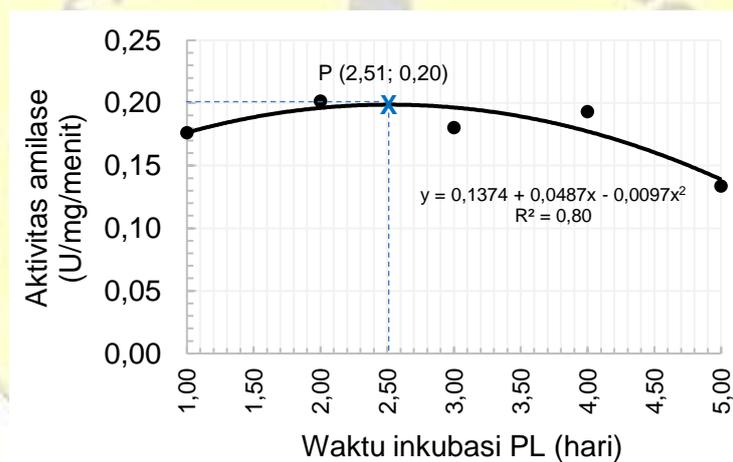
Gambar 27. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas amilase RT

Aktivitas amilase PL berkisar antara  $0,102 \pm 0,073$  sampai dengan  $0,254 \pm 0,074$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi, serta pengaruh waktu inkubasi secara tunggal berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap aktivitas protease PL. Akan tetapi, taraf starter secara tunggal berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap aktivitas protease PL seperti tersaji pada Lampiran 13. Pengaruh tunggal taraf starter tersaji pada Gambar 28 dengan persamaan  $y = 0,1365 + 0,8602x - 2,728x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 1. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,16%; 0,20 U/mg/menit). Pengaruh tunggal waktu hidrolisis tersaji pada Gambar 29 dengan persamaan  $y = 0,1374 + 0,0487x - 0,0097x^2$  dengan nilai koefisien determinasi 0,80. Waktu inkubasi mencapai optimum pada titik P (2,51 hari; 0,20 U/mg/menit) atau setara 60,24 jam. Hasil menunjukkan perbedaan dengan penelitian Khusniati et al. (2020), yaitu *Lactobacillus plantarum* pada substrat tepung pasta umbi mempunyai aktivitas

amilase sebesar 0,578 U/ml pada taraf starter 2% dan waktu inkubasi 24 jam. Hidrolisis dedak gandum oleh *Saccharomyces cerevisiae* pada taraf starter 1,2% dan waktu inkubasi 120 jam menghasilkan aktivitas enzim amilase optimum sebesar 0,39 U/ml (Oliveira et al. 2015).



Gambar 28. Pengaruh taraf starter terhadap aktivitas amilase PL



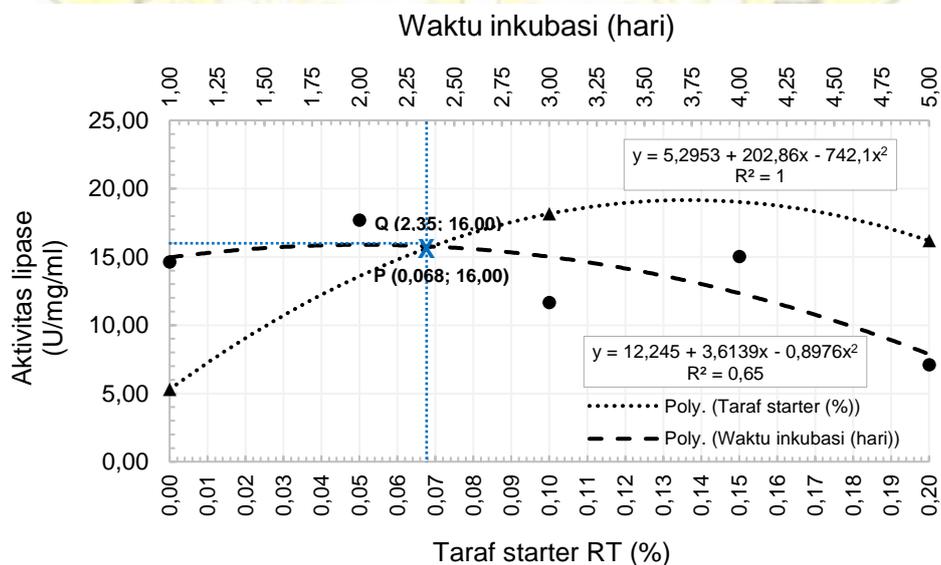
Gambar 29. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas amilase PL

Aktivitas enzim amilase yang terdeteksi pada perlakuan kontrol dapat disebabkan oleh aktivitas enzim amilase pada substrat *maggot* BSF. Sun et al. (2021) menemukan aktivitas enzim lipase, esterase, selulase dan amilase yang signifikan di usus halus *maggot* BSF. Bonelli et al. (2020) menyatakan bahwa terdeteksinya enzim amilase pada sari usus tengah *maggot* BSF merupakan respon terhadap kandungan karbohidrat dalam pakan. Menurut Kresnawati et al. (2019), amilase merupakan enzim ekstraseluler yang dilepaskan ke lingkungan oleh sel bakteri untuk memecah amilum menjadi monosakarida dan disakarida yang kemudian digunakan oleh sel untuk pertumbuhan. Enzim ekstraseluler akan

dihasilkan oleh mikroorganisme apabila terdapat suatu inducer pada substrat tempat tumbuhnya. Substrat *maggot* BSF mengandung karbohidrat sebesar 21,47% (Andari et al. 2021). Kandungan karbohidrat pada *maggot* BSF tersebut berperan sebagai penginduksi mikroorganisme RT dan PL untuk menghasilkan enzim amilase.

### 5.1.4 Aktivitas Lipase

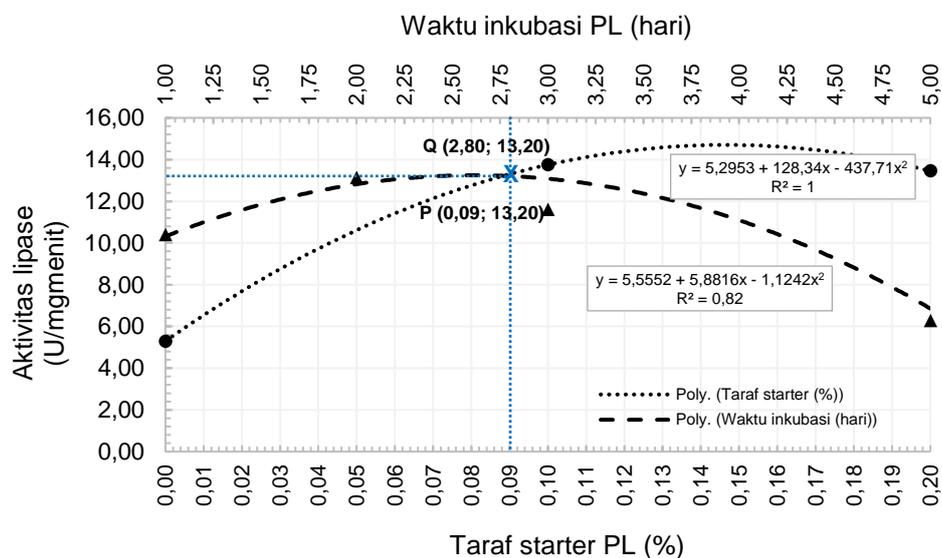
Aktivitas lipase RT berkisar antara  $5,735 \pm 0,896$  sampai dengan  $24,692 \pm 0,570$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap aktivitas lipase RT seperti tersaji pada Lampiran 15. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh secara kuadratik meningkatkan aktivitas lipase RT seperti tersaji pada Lampiran 16 dan Gambar 30. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,068%; 16,00 U/mg/menit), sedangkan waktu inkubasi mencapai optimum pada titik Q (2,35 hari; 16,00 U/mg/menit) atau setara 56,40 jam. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas lebih tinggi dibandingkan aktivitas lipase RT *Rhizopus oryzae* pada substrat minyak goreng dengan taraf starter 8% dan waktu inkubasi 96 jam yaitu 1,40 U/mg (Helal et al. 2021).



Gambar 30. Interaksi taraf starter dan waktu inkubasi terhadap aktivitas lipase RT

Aktivitas lipase PL berkisar antara  $6,788 \pm 0,280$  sampai dengan  $19,753 \pm 0,618$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan

waktu inkubasi berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap aktivitas lipase PL seperti tersaji pada Lampiran 18. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh secara kuadratik meningkatkan aktivitas lipase PL seperti tersaji pada Lampiran 19 dan Gambar 31. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,09%; 13,20 U/mg/menit), sedangkan waktu inkubasi mencapai optimum pada titik Q (2,80 hari; 16,00 U/mg/menit) atau setara 67,20 jam. Hasil ini berbeda dengan penelitian Bredai et al. (2020), yaitu hidrolisis minyak zaitun oleh *Bacillus licheniformis* dengan taraf starter 2% dan waktu inkubasi 48 jam menghasilkan aktivitas enzim lipase optimum sebesar 7,5 U/ml. *Saccharomyces cerevisiae* pada substrat minyak kedelai dengan taraf starter 1% dan waktu inkubasi 72 jam memiliki aktivitas enzim lipase sebesar 1,86 U/ml (Kuncharoen et al. 2020).



Gambar 31. Interaksi taraf starter dan waktu inkubasi terhadap aktivitas lipase PL

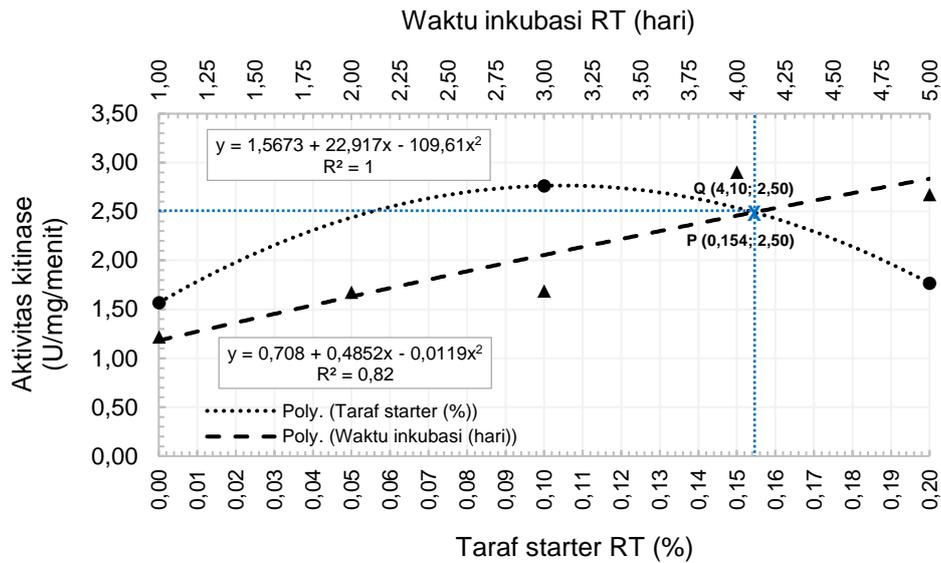
Interaksi taraf starter dan waktu inkubasi mempengaruhi aktivitas lipase RT maupun PL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas lipase meningkat sampai titik optimum (pertemuan titik P dan Q), kemudian aktivitas lipase menurun seiring meningkatnya taraf starter dan waktu inkubasi. Hal tersebut dapat disebabkan oleh akumulasi produk akhir yang kemudian akan menghambat produksi enzim. Menurut Gendi et al. (2021), akumulasi produk akhir dari suatu enzim akan mengakhiri aktivitas enzim dalam proses yang disebut penghambatan umpan balik atau *feedback inhibition*. Proses tersebut merupakan mekanisme pengaturan sel untuk mengontrol laju reaksi metabolisme, sehingga mencegah

akumulasi produk akhir yang berlebihan dan mengatur produksi zat-zat sesuai kebutuhan sel. Menurut Sada et al. (2021), semakin tinggi taraf starter yang digunakan pada suatu substrat, maka pertumbuhan jamur akan semakin padat sehingga mengakibatkan penurunan aktivitas enzim karena nutrisi dalam substrat berkurang dengan cepat. Waktu inkubasi berpengaruh terhadap pertumbuhan miselia jamur, dimana *Rhizopus oryzae* mengalami fase logaritma pertumbuhan pada waktu inkubasi 42 jam, fase stasioner hingga 48 jam dan fase kematian diatas 48 jam. Penelitian Alrumman et al. (2019) menunjukkan bahwa pertumbuhan *Bacillus licheniformis* memasuki fase lag selama 24 jam, fase logaritma hingga 48 jam, fase stasioner hingga 72 jam dan dilanjutkan fase kematian hingga 96 jam.

Aktivitas lipase yang terdeteksi pada perlakuan kontrol disebabkan oleh adanya enzim hidrolitik pada saluran pencernaan *maggot* BSF. Bonelli et al. (2020) membuktikan adanya aktivitas enzim lipase pada isi lumen *maggot* BSF yang diberi pakan dengan kandungan lemak kasar 2,7%, namun tidak terdeteksi pada *maggot* BSF yang diberi pakan campuran sayuran dengan kandungan lemak sebesar 0,7%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas lipase pada perlakuan kontrol merupakan respon enzim hidrolitik saluran pencernaan *maggot* terhadap substrat lemak pada pakannya.

#### **5.1.5 Aktivitas Kitinase**

Aktivitas kitinase RT berkisar antara  $0,547 \pm 0,306$  sampai dengan  $4,092 \pm 0,349$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap aktivitas kitinase RT seperti tersaji pada Lampiran 21. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi berpengaruh secara kuadratik meningkatkan aktivitas kitinase RT seperti tersaji pada Lampiran 22 dan Gambar 32. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,154%; 2,50 U/mg/menit), sedangkan waktu inkubasi mencapai optimum pada titik Q (4,10 hari; 2,50 U/mg/menit) atau setara 98,40 jam. Hasil penelitian berbeda dengan Baihaqi et al. (2022), yaitu hidrolisis kedelai menggunakan *Rhizopus oligosporus* menghasilkan aktivitas kitinase spesifik optimum sebesar 4,01 U/mg dengan taraf starter 1% dan waktu inkubasi selama 72 jam.

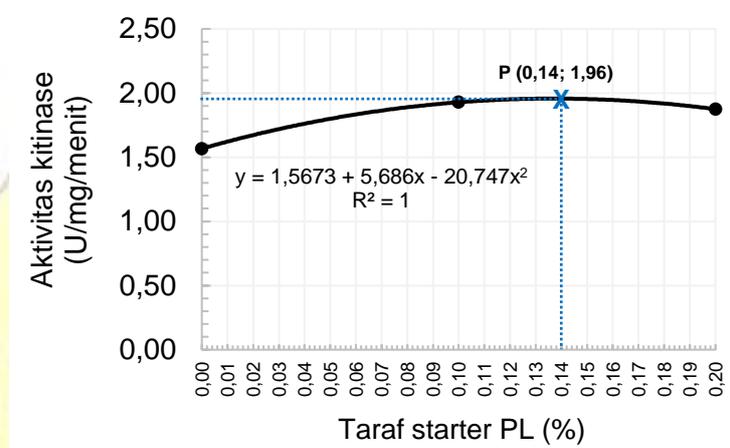


Gambar 32. Interaksi taraf starter dan waktu inkubasi terhadap aktivitas kitinase RT

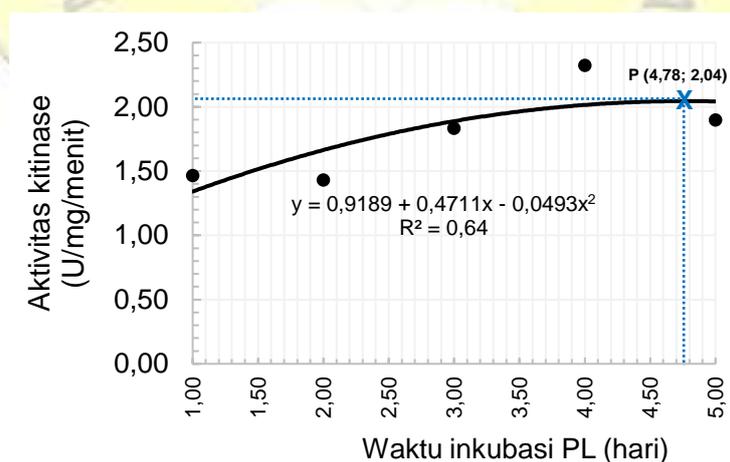
Interaksi antara taraf starter dan waktu inkubasi mempengaruhi aktivitas mikroorganisme kitinase RT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas kitinase meningkat sampai titik optimum (pertemuan titik P dan Q), kemudian aktivitas kitinase menurun seiring meningkatnya taraf starter. Akan tetapi, aktivitas kitinase RT terus meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi. Artinya dalam waktu inkubasi lima hari, RT belum optimum memanfaatkan kitin yang terdapat di dalam substrat. Menurut Aslamsyah et al. (2018), kitin merupakan karbohidrat kompleks yang dapat dihidrolisis oleh mikroorganisme kitinolitik sebagai sumber energi bagi sel. Akan tetapi, jika di dalam substrat terdapat karbohidrat sederhana maka mikroorganisme akan memanfaatkan karbohidrat sederhana tersebut terlebih dahulu.

Aktivitas kitinase PL berkisar antara  $1,319 \pm 0,277$  sampai dengan  $2,886 \pm 0,374$  U/mg/menit. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf starter dan waktu inkubasi, serta pengaruh tunggal taraf starter maupun waktu inkubasi berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap aktivitas kitinase PL seperti tersaji pada Lampiran 24. Pengaruh tunggal taraf starter tersaji pada Gambar 33 dengan persamaan  $y = 1,5673 + 5,686x - 20,747x^2$  dan nilai koefisien determinasi 1. Taraf starter mencapai optimum pada titik P (0,14%; 1,96 U/mg/menit). Pengaruh tunggal waktu hidrolisis tersaji pada Gambar 34 dengan persamaan  $y = 0,9189 + 0,4711x - 0,0493x^2$  dan nilai koefisien determinasi 0,64. Waktu inkubasi mencapai optimum pada titik P (4,78 hari; 2,04 U/mg/menit) atau setara 114,72 jam. Hasil penelitian

berbeda dengan Pamungkas et al. (2023), *Bacillus* sp. dengan taraf starter 1% pada media kitin koloid menghasilkan aktivitas kitinase optimum pada hari ketiga sebesar 0,0006 U/ml. Akeed et al. (2020) menunjukkan bahwa inkubasi *Bacillus licheniformis* pada substrat koloidal kitin dengan taraf starter 5% dan waktu inkubasi 14 hari menghasilkan aktivitas kitinase optimum sebesar 14,2 U/ml. Mikroorganisme dominan yang terkandung di dalam PL adalah bakteri genus *Bacillus*. Menurut Akeed et al. (2020), berbagai jenis strain *Bacillus* potensial menghasilkan enzim kitinase. Artinya, substrat *maggot* BSF 2% yang digunakan dalam penelitian ini memadai untuk taraf starter PL 0,1-0,2% dalam memproduksi enzim kitinase.



Gambar 33. Pengaruh taraf starter terhadap aktivitas kitinase PL



Gambar 34. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas kitinase PL

Taraf starter dan waktu inkubasi masing-masing secara tunggal berpengaruh terhadap aktivitas enzim mikroorganisme. Setelah mencapai titik optimum, aktivitas kitinase PL menurun seiring bertambahnya taraf starter dan lama waktu inkubasi.

Semakin banyak taraf starter yang digunakan, maka semakin cepat proses hidrolisis berlangsung sehingga menyebabkan produksi enzim meningkat (Montesqrit et al. 2022). Akan tetapi, Aslamsyah et al. (2018) menyatakan bahwa semakin tinggi taraf starter suatu mikroorganisme maka persaingan untuk mendapatkan unsur hara semakin tinggi, sehingga pertumbuhan mikroorganisme menjadi lebih lambat. Kondisi tersebut pada akhirnya dapat menurunkan aktivitas enzim PL. Waktu inkubasi yang lebih lama memungkinkan mikroorganisme melakukan pembelahan sel lebih banyak, sehingga produksi enzim diharapkan lebih optimal.

#### **5.1.6 Aktivitas Selulase**

Aktivitas selulase ragi tempe dan probiotik lokal tidak terdeteksi pada penelitian ini. Enzim selulase adalah protein ekstraseluler. Protein ekstraseluler bersifat adaptif, sehingga sintesisnya hanya akan terjadi jika terdapat penginduksi atau induser (Rohmah et al. 2019). Induser yang dimaksud adalah selulosa yang terkandung dalam media produksi. Tidak adanya aktivitas enzim selulase pada ragi tempe dan probiotik lokal menunjukkan bahwa media produksi *maggot* BSF tidak mengandung selulosa. Menurut Thomas et al. (2018), sintesis selulase oleh mikroorganisme memerlukan substrat selulosa sebagai bahan penginduksi. Enzim selulase akan dihasilkan untuk menghidrolisis selulosa, namun jika substratnya mengandung karbohidrat sederhana misalnya glukosa dan fruktosa maka mikroorganisme akan menggunakan karbohidrat sederhana tersebut untuk metabolismenya dan tidak akan menghasilkan enzim selulase karena tidak diperlukan.

### **5.2 TAHAP KEDUA**

Enzim yang digunakan pada penelitian tahap kedua diperoleh dari perlakuan terbaik penelitian tahap pertama yang dilihat dari aktivitas enzim protease, lipase dan kitinase. Berdasarkan aktivitas ketiga enzim tersebut, maka diperoleh perlakuan terbaik untuk produksi enzim RT yaitu taraf starter 0,12% dengan waktu inkubasi 4 hari. Kombinasi tersebut menghasilkan aktivitas enzim protease, lipase, kitinase RT masing-masing 0,034; 5,73; dan 0,11 U/mg/menit. Perlakuan terbaik untuk produksi enzim PL yaitu taraf starter 0,20% dengan waktu inkubasi 4 hari. Kombinasi tersebut menghasilkan aktivitas enzim protease, lipase, kitinase PL masing-masing 0,076; 6,71; dan 0,13 U/mg/menit.

Tabel 18. Taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap kualitas hidrolisat *maggot* BSF ragi tempe

Parameter	Kontrol			1%			2%			3%			Sig.		
	0	24	48	0	24	48	0	24	48	0	24	48	E	H	E x H
Daya hambat <i>E. coli</i> (mm)	1,25	10,75	3,83	2,33	13,08	8,50	1,42	12,00	6,08	1,75	11,67	5,42	**	**	**
Aktivitas antioksidan (%)	60,17	72,96	71,07	62,05	89,10	78,41	62,06	79,04	76,10	60,38	74,21	69,60	**	**	**
Kelarutan dalam pepsin (%)	75,25	83,65	70,57	76,80	85,06	79,45	76,33	82,88	77,42	75,87	81,78	75,09	**	**	**

Keterangan : E = taraf enzim (0,1,2%), H = waktu hidrolisis (0, 24, 48 jam), \* = berbeda nyata, \*\* = berbeda sangat nyata, ns = non signifikan

Tabel 19. Taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap kualitas hidrolisat *maggot* BSF probiotik lokal

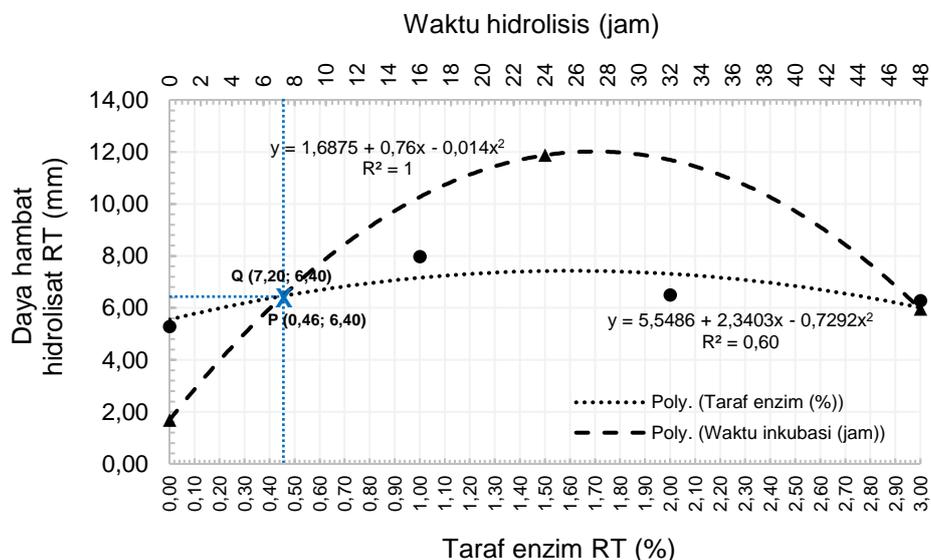
Parameter	Kontrol			1%			2%			3%			Sig.		
	0	24	48	0	24	48	0	24	48	0	24	48	E	H	E x H
Daya hambat <i>E. coli</i> (mm)	1,25	10,75	3,83	1,92	13,17	9,08	1,25	11,92	5,92	1,58	11,25	7,67	**	**	**
Aktivitas antioksidan (%)	60,17	72,96	71,07	67,30	90,78	80,50	66,25	80,92	77,36	66,04	80,71	73,17	**	**	**
Kelarutan dalam pepsin (%)	75,25	83,65	70,57	77,27	88,01	74,31	76,80	85,99	71,51	76,02	83,19	71,66	**	**	**

Keterangan : E = taraf enzim (0,1,2%), H = waktu hidrolisis (0, 24, 48 jam), \* = berbeda nyata, \*\* = berbeda sangat nyata, ns = non signifikan

Pada penelitian tahap kedua, dilakukan uji interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap daya hambat *Escherichia coli*, aktivitas antioksidan dan kelarutan protein dalam pepsin tepung *maggot* yang dihidrolisis oleh enzim RT dan PL dengan hasil uji yang tersaji pada Tabel 18 dan 19.

### 5.2.1 Daya Hambat Terhadap *Escherichia coli*

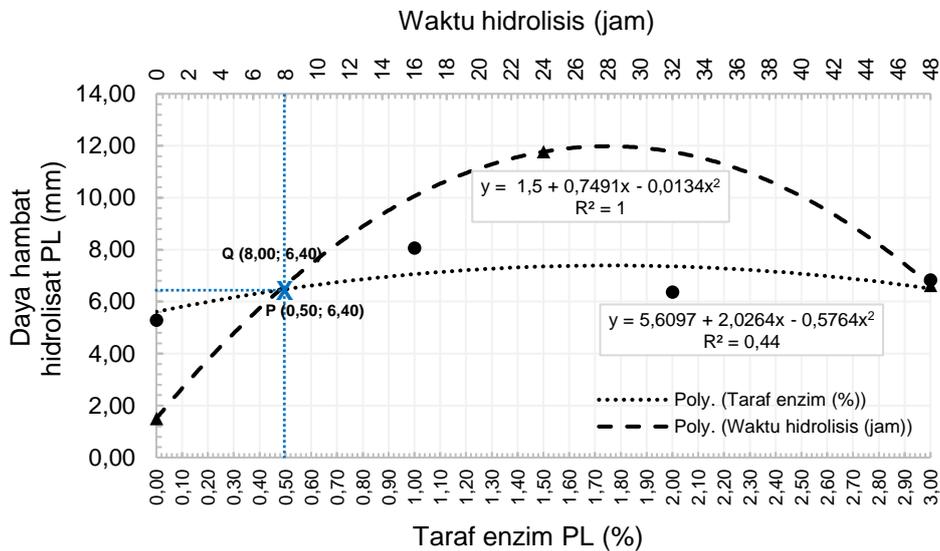
Tepung *maggot* BSF yang sudah dihidrolisis menggunakan ekstrak kasar enzim asal RT atau PL disebut dengan hidrolisat *maggot*. Daya hambat hidrolisat *maggot* RT terhadap *E. coli* berkisar antara  $1,75 \pm 0,43$  sampai dengan  $13,08 \pm 0,52$  mm. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap daya hambat hidrolisat RT seperti tersaji pada Lampiran 26. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh secara kuadratik meningkatkan daya hambat *E. coli* hidrolisat RT seperti tersaji pada Lampiran 27 dan Gambar 35. Taraf enzim mencapai optimum pada titik P (0,46%; 6,40 mm), sedangkan waktu hidrolisis mencapai optimum pada titik Q (7,20 jam; 6,40 mm).



Gambar 35. Interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap daya hambat *E. coli* hidrolisat RT

Daya hambat hidrolisat *maggot* PL terhadap *E. coli* berkisar antara  $1,58 \pm 0,38$  sampai dengan  $13,17 \pm 0,38$  mm. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap daya hambat hidrolisat PL seperti tersaji pada Lampiran 29. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis

berpengaruh secara kuadratik meningkatkan daya hambat *E. coli* hidrolisat PL seperti tersaji pada Lampiran 30 dan Gambar 36. Taraf enzim mencapai optimum pada titik P (0,50%; 6,40 mm), sedangkan waktu hidrolisis mencapai optimum pada titik Q (8,00 jam; 6,40 mm).



Gambar 36. Interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap daya hambat *E. coli* hidrolisat PL

Terdapat interaksi antara taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap daya hambat hidrolisat *maggot* BSF terhadap *E. coli*. Selama waktu hidrolisis, enzim akan mengubah makromolekul protein dan lemak di dalam substrat menjadi bentuk mikromolekul yaitu peptida dan asam lemak rantai pendek yang bersifat antimikroba sehingga daya hambat meningkat. Setelah mencapai titik optimum, semakin tinggi taraf enzim dan semakin lama waktu hidrolisis justru menghasilkan sensitivitas daya hambat yang semakin menurun. Hal tersebut dapat disebabkan oleh kerusakan zat aktif yang terdapat di dalam hidrolisat *maggot*. Sahraini et al. (2021) menyebutkan bahwa protein dapat mengalami kerusakan jika dihidrolisis dengan konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis yang melebihi optimum. Hidrolisat *maggot* BSF RT maupun PL menunjukkan sensitivitas kuat (>6 mm) pada taraf enzim  $\pm 1,5\%$  dan waktu hidrolisis 27 jam. Hal tersebut menandakan bahwa perbandingan enzim dan substrat pada hidrolisat *maggot* mencapai optimum pada taraf 1,5% dan pemutusan ikatan peptida dalam protein maupun ikatan ester dalam lemak telah mencapai kecepatannya pada waktu 27 jam.

Hasil penelitian hidrolisat *maggot* menunjukkan nilai daya hambat *E. coli* yang lebih tinggi dibandingkan Putra et al (2022), yaitu *maggot* tanpa hidrolisis memiliki

zona hambat rata-rata 6 mm. Hidrolisat *maggot* pun memiliki daya hambat terhadap *E. coli* lebih tinggi daripada perlakuan kontrol. Hal tersebut disebabkan oleh degradasi protein secara enzimatik oleh protease asal RT maupun PL. Menurut Prastika et al. (2019), hidrolisis protein secara enzimatik dapat melepaskan peptida inaktif yang terikat di dalam molekul protein induk. Peptida yang sudah dibebaskan tersebut menjadi aktif secara fisiologis (bioaktif) dan mampu menunjukkan fungsi sebagai antimikroba.

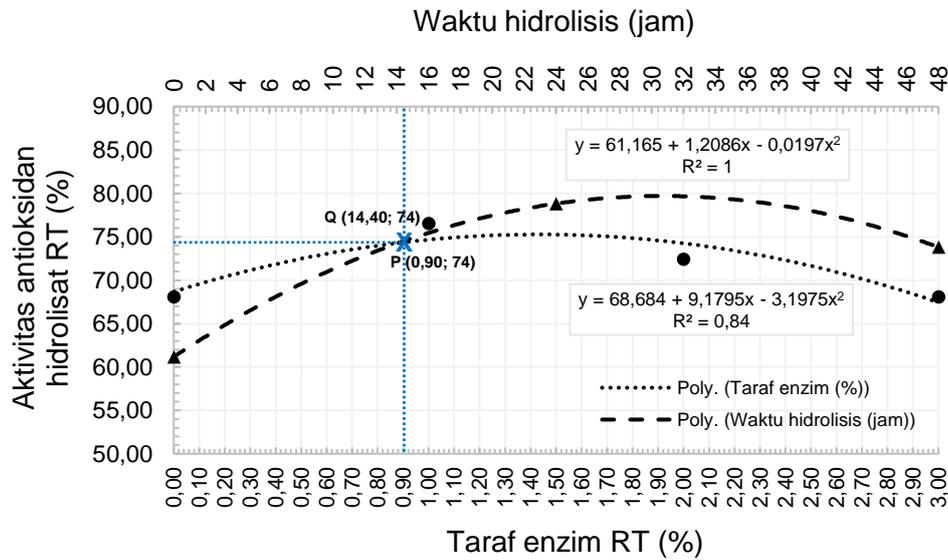
Disamping itu, enzim RT dan PL pun dapat menghidrolisis lemak *maggot* BSF, sehingga dihasilkan asam lemak rantai pendek yang bersifat antimikroba. Menurut Nitbani et al. (2022), hidrolisis lemak oleh lipase dapat menghasilkan asam lemak rantai pendek yaitu asam laurat yang dikenal sebagai *antimicrobial lipid*. Asam laurat dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel makrofag terhadap bakteri patogen (Widianingrum et al. 2021) dan bersifat antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Xia et al. 2021). Adanya peptida bioaktif dan asam lemak rantai pendek tersebut mengakibatkan daya hambat *E. Coli* hidrolisat *maggot* BSF lebih baik dibandingkan *maggot* non hidrolisis.

### 5.2.2 Aktivitas Antioksidan

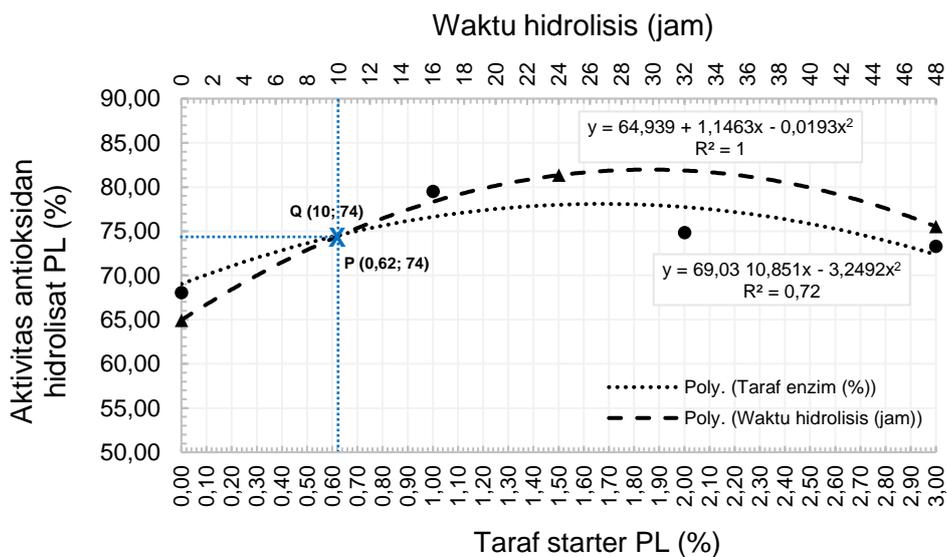
Aktivitas antioksidan hidrolisat *maggot* RT berkisar antara  $60,38 \pm 0,63$  sampai dengan  $89,10 \pm 0,72\%$ . Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap aktivitas antioksidan hidrolisat RT seperti tersaji pada Lampiran 32. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh secara kuadratik meningkatkan aktivitas antioksidan hidrolisat RT seperti tersaji pada Lampiran 33 dan Gambar 37. Taraf enzim mencapai optimum pada titik P (0,90%; 74%), sedangkan waktu hidrolisis mencapai optimum pada titik Q (14,40 jam; 74%).

Aktivitas antioksidan hidrolisat *maggot* PL berkisar antara  $66,04 \pm 0,63$  sampai dengan  $90,78 \pm 0,35\%$ . Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap aktivitas antioksidan hidrolisat PL seperti tersaji pada Lampiran 35. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh secara kuadratik meningkatkan aktivitas antioksidan hidrolisat *maggot* PL seperti tersaji pada Lampiran 36 dan Gambar 38. Taraf enzim mencapai optimum pada titik P

(0,62%; 74%), sedangkan waktu hidrolisis mencapai optimum pada titik Q (10,00 jam; 74% mm).



Gambar 37. Interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap aktivitas antioksidan hidrolisat RT



Gambar 38. Interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap aktivitas antioksidan hidrolisat PL

Terdapat interaksi antara taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap aktivitas antioksidan hidrolisat *maggot* BSF. Semakin tinggi taraf enzim dan semakin lama waktu hidrolisis, maka aktivitas antioksidan menunjukkan tren meningkat dan kemudian menurun. Hal tersebut dapat diakibatkan oleh kerusakan peptida bioaktif seiring meningkatnya taraf enzim dan waktu hidrolisis. Hasil penelitian ini sesuai dengan Yekta et al. (2018), yaitu aktivitas antioksidan hidrolisat protein sereal quinoa meningkat hingga taraf enzim 2,22% dan waktu hidrolisis 150 menit, lalu

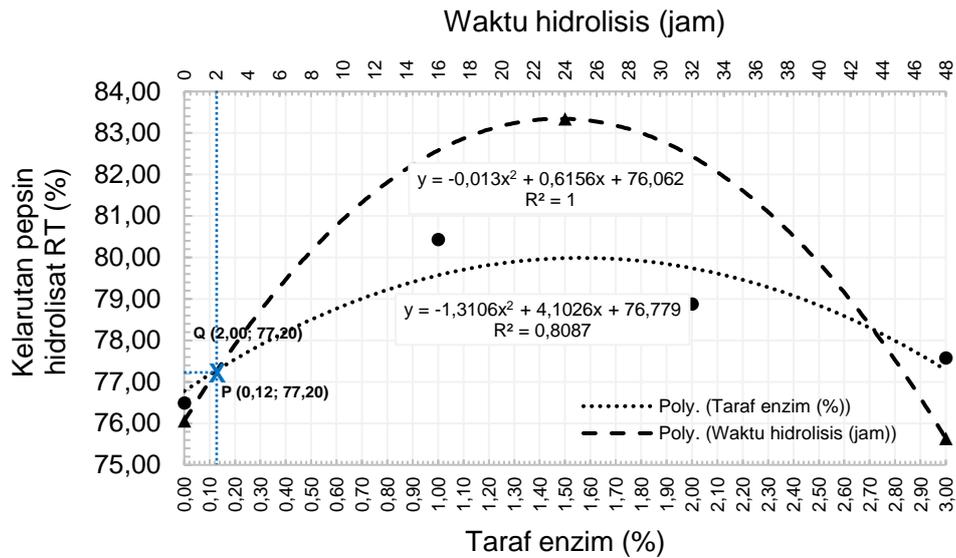
terus menurun seiring bertambahnya taraf enzim dan waktu hidrolisis. Kondisi hidrolisis di atas batas optimum diduga dapat memecah beberapa peptida antioksidan yang terbentuk di awal tahapan hidrolisis, sehingga aktivitas antioksidan akan menurun (Yekta et al. 2018).

Hidrolisat *maggot* memiliki nilai aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada perlakuan kontrol (non hidrolisis). Meningkatnya aktivitas antioksidan tersebut disebabkan oleh adanya proses hidrolisis protein *maggot* BSF oleh enzim asal RT maupun PL, sehingga dilepaskan peptida bioaktif yang bersifat antioksidan. Hasil penelitian selaras dengan Mickalad et al. (2020), bahwa *maggot* BSF hidrolisis memiliki persen penghambatan terhadap DPPH lebih tinggi daripada *maggot* non hidrolisis yaitu masing-masing 48,09% dan 14,52%. Hidrolisat *maggot* memiliki sejumlah peptida dengan berat molekul rendah yang memiliki peran antioksidan.

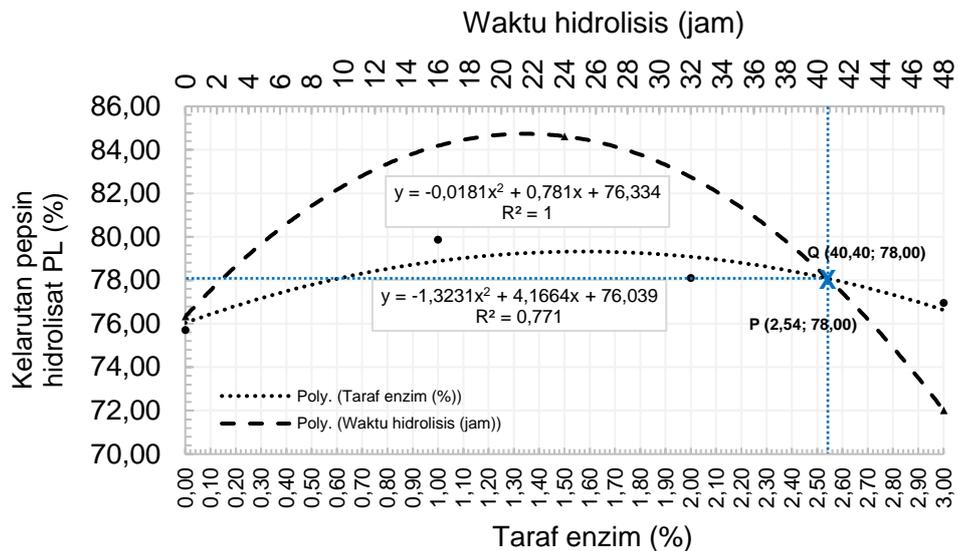
### 5.2.3 Kelarutan Protein Dalam Pepsin

Kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* RT berkisar antara  $75,09 \pm 0,93$  sampai dengan  $85,06 \pm 0,54$  %. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* RT seperti tersaji pada Lampiran 38. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh secara kuadratik meningkatkan kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* RT seperti tersaji pada Lampiran 39 dan Gambar 39. Taraf enzim mencapai optimum pada titik P (0,12%; 77,20%), sedangkan waktu hidrolisis mencapai optimum pada titik Q (2,00 jam; 77,20%).

Kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* PL berkisar antara  $71,51 \pm 0,27$  sampai dengan  $88,01 \pm 0,97$  %. Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* PL seperti tersaji pada Lampiran 41. Uji lanjut orthogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis berpengaruh secara kuadratik meningkatkan kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* PL seperti tersaji pada Lampiran 42 dan Gambar 40. Taraf enzim mencapai optimum pada titik P (2,54%; 78,00%), sedangkan waktu hidrolisis mencapai optimum pada titik Q (40,40 jam; 78,00%).



Gambar 39. Interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* RT



Gambar 40. Interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap kelarutan pepsin hidrolisat *maggot* PL

Terdapat interaksi antara taraf enzim dan waktu hidrolisis terhadap kelarutan pepsin *maggot* BSF secara in vitro. Semakin tinggi taraf enzim dan semakin lama waktu hidrolisis justru menghasilkan daya cerna yang semakin rendah. Seperti halnya daya hambat dan aktivitas antioksidan, kelarutan pepsin pun dapat menurun disebabkan oleh kerusakan protein akibat kondisi metabolisme yang melebihi batas optimum. Zaefarian et al. (2021) menyatakan bahwa uji in vitro yang menggunakan model pencernaan lambung dan usus sangat bervariasi dan tidak terstandarisasi. Kecernaan bergantung pada waktu dan aktivitas enzim, sehingga waktu pencernaan yang lebih lama idealnya menghasilkan pencernaan nutrisi yang

lebih besar. Waktu transit pakan pada saluran pencernaan ayam adalah 30-90 menit di proventrikulus hingga ventrikulus dan 75-110 menit di usus halus.

Hidrolisat *maggot* memiliki nilai kelarutan pepsin lebih tinggi daripada *maggot* non hidrolisis. Hal tersebut disebabkan oleh struktur molekul protein yang lebih sederhana yang dimiliki oleh hidrolisat *maggot*. Menurut Pasaribu (2018), peningkatan kecernaan protein pakan hasil fermentasi disebabkan oleh degradasi protein menjadi asam amino oleh mikroba, sehingga daya cernanya meningkat. Hasil penelitian lebih tinggi dibandingkan bahan pakan lain yang berperan sama sebagai sumber protein alternatif untuk unggas, yaitu alga *Spirulina* sp. dengan kelarutan pepsin sebesar 52,35% (Pootthachaya et al. 2023) dan bulu ayam terhidrolisis sebesar 30,20% (Rahayu et al. 2014). Nilai kelarutan pepsin berbagai bahan pakan bervariasi tergantung kualitas substrat dan spesifisitas enzim. Protein bulu ayam sebagian besar tersusun atas keratin yang sulit dihidrolisis oleh protease pada umumnya, sehingga memiliki kelarutan dalam pepsin yang lebih rendah dibandingkan hidrolisat *maggot* BSF.

#### **5.2.4 Kualitas Fisik**

Kualitas fisik hidrolisat *maggot* RT dan PL tersaji pada Tabel 22. Berat jenis hidrolisat *maggot* berkisar antara  $1,30 \pm 0,04$  sampai dengan  $1,41 \pm 0,08$  g/ml, lebih besar daripada *maggot* non hidrolisis yaitu  $1,20 \pm 0,03$  g/ml. Hasil penelitian ini sesuai dengan Sukria et al (2022), bahwa *maggot* BSF non hidrolisis memiliki berat jenis 1,25 g/ml, sedangkan *maggot* hidrolisis memiliki berat jenis lebih besar yaitu 1,41 g/ml. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan kepadatan dan ukuran partikel bahan pakan. Menurut Suresh et al. (2020), hidrolisis kimiawi dapat menurunkan ukuran partikel suatu bahan. Artinya, hidrolisis *maggot* BSF dapat menurunkan ukuran partikel bahan, sebab enzim protease, lipase dan kitinase yang terkandung di dalam enzim RT maupun PL dapat memecah makromolekul protein, lemak dan kitin menjadi bentuk mikromolekul paling sederhana. Ukuran partikel yang lebih rendah menyebabkan bahan menjadi lebih padat dan berat jenisnya lebih tinggi. Berat jenis yang lebih tinggi menandakan gaya tarik menarik antar partikel lebih kuat dan ruang penyimpanan bahan semakin kecil (Jaelani, 2021). Akibatnya proses penakaran, pencampuran, dan pengemasan bahan lebih baik, serta lebih banyak jumlah ransum yang dapat ditampung di dalam tembolok unggas dalam satuan waktu (Utama et al. 2021).

Tabel 20. Kualitas fisik hidrolisat *maggot* BSF

Parameter Kualitas Fisik	Kontrol	RT	PL
Berat jenis (g/ml)	1,20 ± 0,03	1,41 ± 0,08	1,30 ± 0,04
Kerapatan tumpukan (g/ml)	0,47 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,48 ± 0,01
Kerapatan pemadatan tumpukan (g/ml)	0,52 ± 0,01	0,62 ± 0,01	0,60 ± 0,01
Sudut tumpukan (°)	35,42 ± 0,15	32,11 ± 0,43	33,63 ± 0,75

Keterangan : RT = Ragi Tempe, PL = probiotik lokal

Nilai kerapatan tumpukan hidrolisat *maggot* RT maupun PL lebih tinggi daripada *maggot* non hidrolisis. Kerapatan tumpukan *hidrolisat maggot* berkisar antara  $0,48 \pm 0,01$  sampai dengan  $0,49 \pm 0,01$  g/ml, sedangkan *maggot* non hidrolisis  $0,47 \pm 0,01$  g/ml. Hasil penelitian selaras dengan Sukria et al. (2022), bahwa *maggot* BSF hidrolisis memiliki kerapatan tumpukan  $0,43$  g/ml, sedangkan *maggot* non hidrolisis  $0,36$  g/ml. Nilai kerapatan tumpukan sejalan dengan nilai berat jenis. Menurut Harahap et al. (2020), ransum dengan jumlah partikel halus yang banyak akan meningkatkan nilai kerapatan tumpukan. Kerapatan tumpukan pun berkaitan dengan daya campur dan ketelitian penakaran bahan. *Maggot* non hidrolisis memiliki tekstur lebih lengket karena lemak kasarnya lebih tinggi daripada *maggot* hidrolisis, seperti tersaji pada Tabel 23, sehingga menyulitkan proses pencampuran bahan ke dalam ransum. Akan tetapi, proses hidrolisis enzimatis oleh enzim RT maupun PL dapat memperkecil dan menurunkan kadar lemak *maggot* BSF, sehingga partikel bahan lebih kecil, tekstur lebih kering dan memudahkan proses pencampuran ke dalam ransum. Menurut Jaeani (2021), ransum dengan nilai kerapatan tumpukan lebih tinggi memiliki waktu jatuh atau waktu alir yang lebih cepat dan membutuhkan ruang penyimpanan yang lebih kecil.

Tabel 21. Analisis proksimat hidrolisat *maggot* BSF umur 12 hari

Parameter	<i>Maggot</i> non hidrolisis	Hidrolisat <i>maggot</i> RT	Hidrolisat <i>maggot</i> PL
Bahan kering (%)	94,18	95,46	93,74
Kadar air (%)	5,82	4,54	6,26
Protein kasar (%)	21,01	19,91	19,71
Lemak kasar (%)	30,01	20,92	27,17
Serat kasar (%)	31,80	40,67	34,96
Kadar abu (%)	16,16	17,29	17,36
BETN (%)	1,02	1,21	0,79

Keterangan : Hasil uji Laboratorium Ilmu Nutrisi Makanan Ternak Fakultas Peternakan UNSOED

Kerapatan pemadatan tumpukan merupakan perbandingan berat bahan dengan volume ruang yang ditempati setelah dilakukan proses pemadatan yaitu

penggoyangan. Nilai kerapatan pemadatan tumpukan hidrolisat *maggot* RT maupun PL lebih tinggi daripada *maggot* non hidrolisis. Kerapatan pemadatan tumpukan *hidrolisat maggot* berkisar antara  $0,60 \pm 0,01$  sampai dengan  $0,62 \pm 0,01$  g/ml, sedangkan *maggot* non hidrolisis  $0,52$  g/ml. Hasil penelitian berbeda dengan Sukria et al. (2022), bahwa *maggot* BSF hidrolisis memiliki kerapatan pemadatan tumpukan  $0,61$  g/ml, sedangkan *maggot* non hidrolisis yaitu  $0,63$  g/ml. Adanya ketidaktepatan proses pemadatan yang tidak konsisten dapat mempengaruhi hasil akhir nilai kerapatan pemadatan tumpukan. Menurut Jaelani et al. (2016), kerapatan pemadatan tumpukan dipengaruhi oleh ukuran partikel bahan. Semakin kecil ukuran partikel maka proses pemadatan akan menyebabkan rongga udara antar partikel bahan menyempit, sehingga nilai kerapatan pemadatan tumpukan akan meningkat.

Nilai sudut tumpukan hidrolisat *maggot* RT maupun PL lebih rendah daripada *maggot* non hidrolisis. Sudut tumpukan hidrolisat *maggot* berkisar antara  $32,11 \pm 0,43$  sampai dengan  $33,63 \pm 0,75^\circ$ , sedangkan *maggot* non hidrolisis  $35,42 \pm 0,15^\circ$ . Hasil penelitian sesuai dengan Sukria et al. (2022), bahwa hidrolisis *maggot* BSF secara kimiawi menggunakan pelarut hexan menghasilkan sudut tumpukan yang lebih kecil daripada *maggot* non hidrolisis yaitu masing-masing  $15,64^\circ$  dan  $28,42^\circ$ . Menurut Jaelani (2021), sudut tumpukan  $30-38^\circ$  dikategorikan bersifat mudah mengalir. Perlakuan hidrolisis enzimatik oleh RT dan PL dapat memecah makromolekul nutrisi menjadi bentuk sederhana, sehingga ukuran partikel mengecil dan memiliki sudut tumpukan lebih rendah. Menurut Sari et al. (2023), bahan pakan dengan sudut tumpukan lebih rendah lebih mudah mengalir, tidak menyumbat wadah dan efisien dalam proses pencampuran bahan di dalam silo.

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Interaksi taraf starter dan waktu inkubasi dapat meningkatkan kadar protein dan aktivitas enzim ragi tempe (RT) maupun probiotik lokal (PL). Kadar protein dan aktivitas enzim RT meningkat pada taraf starter 0,10 sampai dengan 0,13% dengan waktu inkubasi 2,00 sampai dengan 3,47 hari. Kadar protein dan aktivitas enzim PL meningkat pada taraf starter 0,13 sampai dengan 0,20% dengan waktu inkubasi 2,61 sampai dengan 5,00 hari.

Interaksi taraf enzim dan waktu hidrolisis dapat meningkatkan kualitas tepung *maggot* BSF. Kualitas *maggot* BSF yang dihidrolisis enzim RT meningkat pada taraf enzim 1,43 sampai dengan 1,60% dengan waktu hidrolisis 23,87 sampai dengan 27,14 jam. Kualitas *maggot* BSF yang dihidrolisis enzim PL meningkat pada taraf enzim 1,54 sampai dengan 1,76% dengan waktu hidrolisis 21,57 sampai dengan 29,70 jam.

Ditemukannya aktivitas enzim hidrolitik yang optimum serta meningkatnya kualitas *maggot* BSF merupakan langkah awal untuk memilih RT dan PL sebagai starter untuk meningkatkan kualitas pakan unggas secara hidrolisis enzimatis. Diperlukan uji fisik dan pencernaan *in vitro* lainnya untuk mengevaluasi pengaruh enzim hidrolitik terhadap tepung *maggot* BSF sebagai alternatif pakan ternak unggas berkelanjutan.