

# Pengaruh Fermentasi Terhadap Kelimpahan *Lactobacillus* sp. Dalam Probiotik Limbah Cair Tahu

Fajar Hidayat, Raden Kokoh Haryo Putro\*

Program Studi Teknik Lingkungan, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur, Surabaya

\*Koresponden email: radenkokoh.tl@upnjatim.ac.id

Diterima: 27 November 2025

Disetujui: 01 Desember 2025

## Abstract

Tofu wastewater is a liquid waste with high organic content that has the potential to be recycled. This study aims to analyze the effect of substrate composition and fermentation time using EM4 starter on the abundance of *Lactobacillus* sp. as a key parameter of probiotic quality. The study used a Completely Randomized Design (CRD) with four composition treatments: P1 (30% TWW : 30% water : 40% EM4), P2 (40% TWW : 20% water : 40% EM4), P3 (50% TWW : 10% water : 40% EM4), and P4 (60% TWW : 0% water : 40% EM4). Fermentation was observed for 18 days. The results showed that composition and fermentation time significantly affected bacterial abundance. The highest abundance was achieved in P4 on day 14 ( $7.0 \times 10^6$  CFU/mL). However, the most efficient composition was P1, which produced a high abundance of *Lactobacillus* sp. ( $4.1 \times 10^6$  CFU/mL) and successfully reduced BOD<sub>5</sub> levels to 108.45 mg/L, below the quality standard. The optimal fermentation time was 14 days, after which the population declined. It was concluded that the fermentation of tofu wastewater with the right composition and time can produce qualified probiotics while reducing environmental pollution.

**Keywords:** fermentation; *lactobacillus* sp.; probiotic; tofu wastewater

## Abstrak

Mengatasi Limbah cair tahu merupakan limbah cair berkandungan organik tinggi yang berpotensi untuk didaur ulang. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh komposisi substrat dan waktu fermentasi menggunakan starter EM4 terhadap kelimpahan *Lactobacillus* sp. sebagai parameter kualitas probiotik. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan komposisi: P1 (30% LCT : 30% air : 40% EM4), P2 (40% LCT : 20% air : 40% EM4), P3 (50% LCT : 10% air : 40% EM4), dan P4 (60% LCT : 0% air : 40% EM4). Fermentasi diamati selama 18 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kelimpahan bakteri. Kelimpahan tertinggi dicapai pada P4 di hari ke-14 ( $7,0 \times 10^6$  CFU/mL). Namun, komposisi paling efisien adalah P1, yang menghasilkan kelimpahan *Lactobacillus* sp. yang tinggi ( $4,1 \times 10^6$  CFU/mL) dan berhasil menurunkan nilai BOD<sub>5</sub> menjadi 108,45 mg/L, di bawah baku mutu. Waktu fermentasi optimal adalah 14 hari, setelahnya populasi mengalami penurunan. Disimpulkan bahwa fermentasi limbah cair tahu dengan komposisi dan waktu yang tepat dapat menghasilkan probiotik yang memenuhi syarat sekaligus mengurangi pencemaran lingkungan.

**Kata Kunci:** fermentasi; *lactobacillus* sp.; limbah cair tahu; probiotik

## 1. Pendahuluan

Industri tahu merupakan salah satu sektor agroindustri yang berkembang pesat di Indonesia karena tingginya konsumsi produk kedelai oleh masyarakat [1]. Namun, peningkatan produksi tahu menghasilkan limbah cair tahu (LCT) dalam jumlah besar, yang berasal dari proses pencucian, perebusan, hingga pencetakan tahu [2]. LCT memiliki kandungan bahan organik sangat tinggi, sehingga nilai BOD dan COD biasanya melebihi baku mutu limbah cair industri pangan [3]. Apabila dibuang langsung ke lingkungan, LCT menyebabkan penurunan oksigen terlarut, eutrofikasi, peningkatan mikroorganisme patogen, serta menghasilkan senyawa berbau seperti H<sub>2</sub>S dan NH<sub>3</sub> [4]. Selain itu, beberapa studi menunjukkan bahwa pembuangan LCT ke perairan dapat mempercepat proses sedimentasi organik dan menurunkan kualitas habitat mikroorganisme akuatik [5]. Kondisi ini semakin menegaskan perlunya inovasi pengolahan limbah yang efektif sekaligus berorientasi pada pemanfaatan kembali.

Di sisi lain, sektor budidaya ikan terutama ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara luas memanfaatkan probiotik untuk meningkatkan pertumbuhan, ketahanan tubuh, dan keseimbangan mikrobiota usus ikan [6]. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bagi inang melalui peningkatan keseimbangan mikroflora [7]. Bakteri asam laktat, termasuk *Lactobacillus*

*sp.*, merupakan kandidat probiotik unggulan karena mampu menghasilkan asam organik dan senyawa antimikroba yang menekan pertumbuhan patogen [8]. Sejumlah kajian memperkuat temuan ini dengan menunjukkan bahwa suplementasi probiotik mampu memperbaiki konversi pakan, meningkatkan imunitas non-spesifik, dan menstabilkan mikrobiota usus pada berbagai jenis ikan budidaya [9]. Meskipun probiotik komersial seperti EM4 banyak digunakan, keterbatasan akses dan biaya masih menjadi kendala bagi pembudidaya skala kecil [10].

Berbagai penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa LCT memiliki kandungan karbohidrat, protein terlarut, dan mineral yang dapat dimanfaatkan sebagai media fermentasi mikroorganisme [11]. Rahmansari & Mirwan [12] membuktikan bahwa LCT dapat dijadikan substrat probiotik dengan kelimpahan mencapai  $10^5$  CFU/mL. Namun, formulasi substrat terbaik, proporsi pengenceran, serta waktu fermentasi optimal dengan starter EM4 masih belum banyak diteliti secara terstruktur. Selain itu, ketepatan formulasi fermentasi sangat menentukan efisiensi pertumbuhan mikroba, karena perbedaan rasio substrat dapat memengaruhi dinamika metabolisme dan kestabilan kultur [13]. Optimalisasi ini menjadi penting mengingat standar viabilitas probiotik menurut SNI 8121:2015 mensyaratkan kandungan bakteri hidup minimal  $10^6$  CFU/mL [16]. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh komposisi LCT-EM4 terhadap kelimpahan *Lactobacillus sp.*, serta menentukan waktu fermentasi optimal untuk menghasilkan probiotik berkualitas tinggi dari limbah cair tahu.

## 2. Metode Penelitian

### 2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor utama, yaitu variasi komposisi substrat dan waktu fermentasi. Limbah cair tahu (LCT) diperoleh dari industri tahu “Rumah Tahu Randusongo” di Gresik, kemudian disaring untuk menghilangkan padatan kasar sebelum digunakan sebagai substrat fermentasi. Starter yang digunakan adalah probiotik komersial EM4. Fermentasi dilakukan di dalam botol HDPE berkapasitas 1,5 liter yang dilengkapi dengan *air lock* pada suhu ruang ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama 18 hari. Pengambilan sampel dilakukan pada empat titik waktu, yaitu hari ke-0, 7, 14, dan 18.

### 2.2 Variabel Penelitian

#### a. Variabel Bebas

Variasi komposisi substrat LCT-air-EM4, yaitu:

- P1: 30% LCT : 30% air : 40% EM4
- P2: 40% LCT : 20% air : 40% EM4
- P3: 50% LCT : 10% air : 40% EM4
- P4: 60% LCT : 0% air : 40% EM4

#### b. Variabel Kontrol

- Jenis starter probiotik (EM4)
- Volume fermentor (1,5 L)
- Suhu fermentasi ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ )
- Kondisi anaerob selama inkubasi

#### c. Variabel Terikat

- Kelimpahan *Lactobacillus sp.* (CFU/mL) pada masing-masing komposisi dan waktu fermentasi.

### 2.3 Analisis Data

Kelimpahan *Lactobacillus sp.* dianalisis menggunakan metode *spread plate* pada media MRS agar. Koloni yang terbentuk dihitung dan dinyatakan sebagai *colony forming unit* per mililiter (CFU/mL). Data hasil perhitungan dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan pola pertumbuhan bakteri pada masing-masing perlakuan komposisi dan titik waktu fermentasi. Analisis meliputi perbandingan peningkatan populasi, identifikasi fase pertumbuhan bakteri, serta evaluasi perlakuan yang memberikan kelimpahan optimal.

### 3. Hasil dan Pembahasan

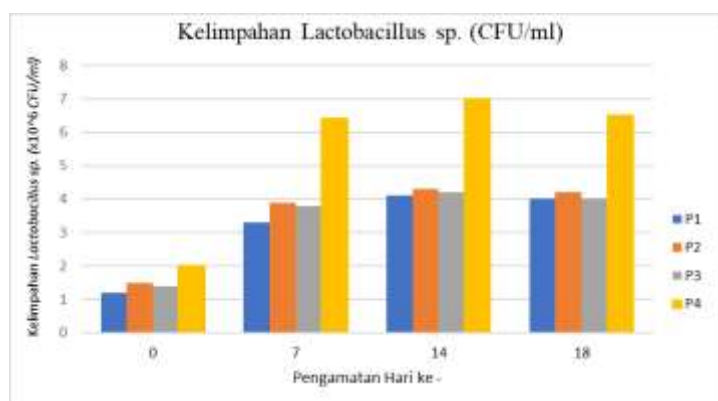
#### 3.1 Dinamika Kelimpahan Bakteri Selama Fermentasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dinamika kelimpahan *Lactobacillus sp.* sangat dipengaruhi oleh variasi komposisi substrat serta lamanya fermentasi. Secara umum, seluruh perlakuan memperlihatkan pola peningkatan populasi bakteri yang signifikan sejak hari ke-0 hingga hari ke-14. Pola ini mencerminkan fase pertumbuhan eksponensial, di mana bakteri mulai beradaptasi dengan substrat dan memanfaatkan nutrisi secara optimal. Penyajian data pada **Tabel 1** memberikan gambaran kuantitatif mengenai perubahan populasi pada setiap interval waktu, sekaligus memudahkan perbandingan antar perlakuan.

**Tabel 1.** Kelimpahan *Lactobacillus sp.* (CFU/ml)

Hari ke-	P1	P2	P3	P4
0	$1.2 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6$	$2.0 \times 10^6$
7	$3.3 \times 10^6$	$3.9 \times 10^6$	$3.8 \times 10^6$	$6.4 \times 10^6$
14	$4.1 \times 10^6$	$4.3 \times 10^6$	$4.2 \times 10^6$	$7.0 \times 10^6$
18	$4.0 \times 10^6$	$4.2 \times 10^6$	$4.0 \times 10^6$	$6.5 \times 10^6$

Sumber: Hasil penelitian



**Gambar 1.** Grafik Kelimpahan *Lactobacillus sp.* (CFU/ml)

Pada seluruh perlakuan, puncak kelimpahan tercatat pada hari ke-14. Perlakuan P4 menunjukkan nilai tertinggi, yaitu  $7,0 \times 10^6$  CFU/mL, sementara P1, P2, dan P3 menunjukkan kisaran  $4,1\text{--}4,3 \times 10^6$  CFU/mL. Setelah hari ke-14, terjadi penurunan populasi pada hari ke-18 sebagai indikasi masuknya kultur ke fase kematian. Penurunan ini merupakan fenomena alami fermentasi anaerob tertutup, yang dipengaruhi oleh menurunnya ketersediaan substrat mudah terdegradasi dan meningkatnya akumulasi metabolit toksik seperti asam organik. Secara keseluruhan, fase pertumbuhan bakteri dalam penelitian ini mengikuti pola kurva pertumbuhan mikroba klasik, yang ditandai dengan fase adaptasi, eksponensial, stasioner, dan fase penurunan.

#### 3.2 Efisiensi Fermentasi dan Stabilitas Kultur

Analisis terhadap efisiensi fermentasi menunjukkan bahwa komposisi substrat sangat menentukan kestabilan kultur bakteri selama fermentasi berlangsung. Pada perlakuan dengan pengenceran (P1 dan P2), meskipun konsentrasi LCT lebih rendah dibandingkan P4, nilai kelimpahan bakteri tetap berada pada kisaran  $4 \times 10^6$  CFU/mL pada hari ke-14. Hasil ini menunjukkan bahwa substrat yang lebih encer tetap mampu menyediakan nutrisi esensial bagi pertumbuhan *Lactobacillus sp.*, sekaligus memberikan kondisi osmotik yang lebih stabil bagi sel bakteri. Hal tersebut dapat meminimalkan tekanan osmotik dan stres metabolik yang biasanya muncul pada substrat dengan konsentrasi tinggi.

Dari sisi stabilitas kultur, P1 dan P2 mengalami penurunan populasi yang lebih rendah pada hari ke-18 dibandingkan P4. Hal ini mengindikasikan bahwa media yang lebih encer dapat mempertahankan viabilitas bakteri lebih lama. Sementara itu, P4 mengalami penurunan populasi yang lebih tajam, yang besar kemungkinan dipengaruhi oleh akumulasi metabolit fermentasi seperti asam laktat yang menyebabkan kondisi lingkungan menjadi semakin asam dan kurang mendukung kelangsungan hidup bakteri. Dengan

demikian, meskipun P4 memberikan kelimpahan tertinggi pada fase puncak, P1 dan P2 menunjukkan performa lebih baik dalam mempertahankan kestabilan kultur secara keseluruhan.

### 3.3 Analisis Komparatif Antar Perlakuan

Perbandingan antar perlakuan menunjukkan bahwa formulasi substrat berperan penting dalam menentukan performa fermentasi secara keseluruhan. P4, yang menggunakan konsentrasi LCT tertinggi tanpa pengenceran, menghasilkan kelimpahan bakteri terbesar pada hari ke-14. Hal ini dapat dijelaskan oleh tingginya kandungan nutrisi seperti karbohidrat, protein terlarut, mineral, serta senyawa bioaktif dalam LCT yang berfungsi sebagai substrat dan stimulator pertumbuhan bakteri asam laktat [10,14]. Namun, tingginya konsentrasi nutrisi tidak selalu berbanding lurus dengan stabilitas kultur, sebagaimana ditunjukkan oleh penurunan populasi yang lebih drastis pada hari ke-18.

Sebaliknya, P1 dan P2, meskipun memiliki konsentrasi LCT yang lebih rendah, menunjukkan efisiensi fermentasi yang baik. Keduanya berhasil mempertahankan kelimpahan bakteri pada kisaran yang melampaui ambang batas viabilitas probiotik menurut SNI 8121:2015, yaitu  $\geq 10^6$  CFU/mL. Bahkan, nilai kelimpahan yang dicapai sebanding atau melampaui standar viabilitas probiotik komersial seperti EM4 [15]. Dengan demikian, secara komparatif dapat disimpulkan bahwa P4 unggul dalam menghasilkan populasi tertinggi, tetapi P1 dan P2 lebih unggul dari sisi efisiensi substrat dan kestabilan kultur.

Temuan ini memperjelas bahwa pemilihan komposisi substrat tidak hanya ditentukan oleh besarnya populasi yang dicapai, tetapi juga oleh konsistensi pertumbuhan bakteri dan stabilitas kultur dalam jangka waktu fermentasi. Oleh karena itu, secara praktis, P1 dan P2 dapat dipertimbangkan sebagai formulasi yang lebih seimbang dan efisien untuk produksi probiotik berbasis limbah cair tahu.

## 4. Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa fermentasi limbah cair tahu menggunakan EM4 dapat menghasilkan probiotik *Lactobacillus sp.* yang memenuhi standar SNI ( $\geq 10^6$  CFU/mL). Komposisi 60% LCT : 40% EM4 (P4) memberikan kelimpahan tertinggi pada hari ke-14, yaitu  $7.0 \times 10^6$  CFU/mL, sedangkan komposisi 30% LCT : 30% air : 40% EM4 (P1) merupakan perlakuan paling efisien dalam pemanfaatan substrat. Waktu fermentasi optimal adalah 14 hari; fermentasi lebih lama menyebabkan penurunan populasi bakteri. Probiotik berbasis limbah cair tahu berpotensi sebagai alternatif probiotik murah dan ramah lingkungan bagi sektor perikanan.

## 5. Referensi

- [1] Zulfa, M., & Hamdi, H. (2019). Industri Tahu di Indonesia: Tantangan dan Peluang Pengolahan Limbah. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 11(3), 211–220.
- [2] Arifan, F., Setiawan, B., & Lestari, D. (2022). Potensi Limbah Cair Tahu sebagai Sumber Nutrien dalam Produksi Probiotik. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 12(2), 89–98.
- [3] Badan Standardisasi Nasional. (2016). *SNI 06-6989.2-2004: Air dan Air Limbah – Cara Uji BOD/COD*. Jakarta: BSN.
- [4] Hwang, M. H., Jang, N. J., Hyun, S. H., & Kim, I. S. (2017). Anaerobic Degradation of Tofu-Processing Wastewater in a UASB Reactor. *Bioresource Technology*, 98(15), 2838–2845.
- [5] Sutrisno, A., & Nurhayati, E. (2020). Environmental Impact of Tofu Wastewater Discharge on River Ecosystems. *Journal of Environmental Science*, 15(2), 98–105.
- [6] Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S. J., Baker, R. T. M., & Bogwald, J. (2010). The Current Status and Future Focus of Probiotic and Prebiotic Applications for Salmonids. *Aquaculture*, 302(1–2), 1–18.
- [7] Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(1), 2–14.
- [8] Ringo, E., Zhou, Z., Vecino, J. L. G., Wadsworth, S., & Krogh, A. (2018). Effect of Dietary Components on the Gut Microbiota of Aquatic Animals: A Review. *Aquaculture Nutrition*, 24(1), 1–22.
- [9] Hoseinifar, S. H., Sun, Y. Z., Wang, A., & Zhou, Z. (2018). Probiotics as Means of Improving Growth and Health of Fish. *Aquaculture Research*, 49(1), 1–9.
- [10] CV. Sadewa Agri Jaya. (2023). *Spesifikasi Produk EM4 Perikanan*. Diakses dari em4.co.
- [11] Yang, J., Tan, H., & Cai, Y. (2018). Characteristics of Tofu Wastewater and Its Utilization as a Nutrient Source for Microbial Growth. *Journal of Food Science and Technology*, 55(8), 3120–3128.
- [12] Rahmansari, D. D., & Mirwan, M. (2022). Pemanfaatan Limbah Cair Tahu sebagai Probiotik Budidaya Perikanan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 21(1), 78–87.

- 
- 13] Mahardika, D. A., & Putri, S. W. (2021). Descriptive Analysis of Microbial Growth Dynamics in Liquid Culture Systems. *Journal of Environmental Microbiology Studies*, 6(3), 101–110.
  - 14] Liu, Y., Wang, J., & Zhang, H. (2016). Effects of Substrate Dilution on Microbial Biomass Conversion Efficiency in Fermentation Processes. *Bioresource Technology Reports*, 4, 150–157.
  - [15] Fadri, S., Muchlisin, Z. A., & Sugito, S. (2016). Pertumbuhan, Kelangsungan Hidup, dan Daya Cerna Pakan Ikan Nila dengan Penambahan Probiotik EM4. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan*, 1(2), 210–221.
  - [16] Badan Standardisasi Nasional. (2015). *SNI 8121:2015 – Pakan Ikan: Probiotik untuk Budidaya Ikan*. Jakarta: BSN.