

**PENGARUH FERMENTASI PADA PEMBUATAN
MOCAF (*MODIFIED CASSAVA FLOUR*) DENGAN
MENGUNAKAN RAGI ROTI (*Saccharomyces
cerevisiae*), RAGI TEMPE (*Rhizopus oryzae*), dan
Lactobacillus plantarum TERHADAP KANDUNGAN
ZAT NUTRISI DAN ANTI NUTRISI**

Nama Mahasiswa : Jeffry Tandrianto 2310100105
Doniarta Kurniawan Mintoko 2310100147
Jurusan : Teknik Kimia FTI-ITS
Dosen Pembimbing : Setiyo Gunawan, ST, Ph.D

Abstrak

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan komoditas tanaman pangan yang penting sebagai sumber bahan pangan di Indonesia karena jumlahnya yang melimpah. Salah satu usaha diversifikasi pengolahan singkong yang saat ini sedang dikembangkan adalah Mocaf (*Modified cassava flour*). Mocaf adalah tepung singkong yang dibuat dengan menggunakan prinsip modifikasi sel singkong secara fermentasi. Proses fermentasi singkong menghasilkan tepung dengan karakteristik berbau netral (cenderung harum), tekstur lembut, kandungan protein yang tinggi, dan HCN yang lebih rendah. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh fermentasi pada pembuatan mocaf (*modified cassava flour*) dengan menggunakan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*), ragi tempe (*Rhizopus oryzae*), dan *Lactobacillus plantarum* terhadap kandungan zat nutrisi dan anti nutrisi. Zat nutrisi yang dimaksud adalah protein, lemak, dan serat dan zat anti nutrisi adalah kandungan HCN. Dari hasil penelitian didapatkan pada variabel waktu fermentasi 0, 36, dan 72 jam, kadar protein mengalami kenaikan untuk *Saccharomyces cerevisiae* (2,78%; 2,82%; 2,85%; 2,91%; 2,92%; 2,94%; dan 3,03%), *Rhizopus oryzae* (2,78%; 2,79%; 2,82%; 2,87%; 3,10%; 4,10%; dan 5,57%), dan *Lactobacillus plantarum* (2,78%; 2,79%;

2,80%; 2,81%; 3,02%; 3,12%; dan 3,39%). Kadar lemak mengalami penurunan untuk *Saccharomyces cerevisiae* (6,19%; 5,60%; 5,51%; 4,72%; 3,10%; 2,10%; dan 1,76%), *Rhizopus oryzae* (6,19%; 5,34%; 4,47%; 4,08%; 3,70%; 3,34%; dan 2,38%), dan *Lactobacillus plantarum* (6,19%; 5,84%; 4,87%; 4,18%; 3,90%; 3,26%; dan 3,17%). Kadar serat untuk *Saccharomyces cerevisiae* (1,78%; 1,89%; 1,82%; 1,43%; 1,42%; 1,53%; dan 1,59%), *Rhizopus oryzae* (1,78%; 1,56%; 1,92%; 1,39%; 1,39%; 1,37%; dan 1,92%), dan *Lactobacillus plantarum* (1,78%; 1,70%; 1,49%; 1,22%; 1,57%; 1,43%; dan 1,72%). Kadar abu mengalami penurunan untuk *Saccharomyces cerevisiae* (1,82%; 1,06%; 0,96%; 0,81%; 0,84%; 0,87%; dan 0,85%), *Rhizopus oryzae* (1,82%; 0,71%; 0,84%; 0,83%; 0,70%; 0,81%; dan 1,05%), dan *Lactobacillus plantarum* (1,82%; 1,56%; 0,97%; 1,05%; 0,84%; 0,85%; dan 1,05%). Kadar HCN mengalami penurunan untuk *Saccharomyces cerevisiae* (11,71 mg/kg menjadi 6,11 mg/kg), *Rhizopus oryzae* (11,71 mg/kg menjadi 5,60 mg/kg), dan *Lactobacillus plantarum* (11,71 mg/kg menjadi 8,15 mg/kg).

Kata Kunci : *Mocaf, Lactobacillus plantarum, Rhizopus oryzae, Saccharomyces cerevisiae*

**EFFECT OF FERMENTATION IN MOCAF
(MODIFIED CASSAVA FLOUR) PROCESSING WITH
BAKER'S YEAST (*Saccharomyces cerevisiae*),
TEMPEH YEAST (*Rhizopus oryzae*), AND *Lactobacillus
plantarum* TO THE NUTRIENTS AND ANTI
NUTRIENT CONTENT**

Student Name : Jeffrey Tandrianto 2310100105
Doniarta Kurniawan Mintoko 2310100147
Department : Chemical Engineering FTI-ITS
Advisors : Setiyo Gunawan, ST, Ph.D

Abstract

Cassava (*Manihot esculenta*) is an Indonesian food crops rich in carbohydrates as a source of raw materials and food. One of the cassava processing which is currently being developed is Mocaf (Modified Cassava Flour). Mocaf cassava flour is made by using the principle of modified cells in the fermentation of cassava. The fermentation process produces cassava flour with these following characteristic: neutral smell, soft texture, high protein content and lower HCN. The purpose of this study was to determine the effect of fermentation in mocaf (*modified cassava flour*) processing with baker's yeast (*saccharomyces cerevisiae*), tempeh yeast (*rhizopus oryzae*), and *lactobacillus plantarum* to the nutrients and anti nutrient content. Nutrients content are proteins, fats, and fiber and anti-nutrient substance is HCN content. From the experiment results, the variable fermentation time 0, 36, and 72 hours, the protein content increased for *Saccharomyces cerevisiae* (2,78%; 2,82%; 2,85%; 2,91%; 2,92%; 2,94%; dan 3,03%), *Rhizopus oryzae* (2,78%; 2,79%; 2,82%; 2,87%; 3,10%; 4,10%; dan 5,57%), and *Lactobacillus plantarum* (2,78%; 2,79%; 2,80%; 2,81%; 3,02%; 3,12%; dan 3,39%). Fat content decreased for *Saccharomyces cerevisiae* (6,19%; 5,60%; 5,51%; 4,72%; 3,10%; 2,10%; dan 1,76%), *Rhizopus oryzae*

(6,19%; 5,34%; 4,47%; 4,08%; 3,70%; 3,34%; dan 2,38%), and *Lactobacillus plantarum* (6,19%; 5,84%; 4,87%; 4,18%; 3,90%; 3,26%; dan 3,17%). Fiber content for *Saccharomyces cerevisiae* (1,78%; 1,89%; 1,82%; 1,43%; 1,42%; 1,53%; dan 1,59%), *Rhizopus oryzae* (1,78%; 1,56%; 1,92%; 1,39%; 1,39%; 1,37%; dan 1,92%), and *Lactobacillus plantarum* (1,78%; 1,70%; 1,49%; 1,22%; 1,57%; 1,43%; dan 1,72%). Ash content decreased for *Saccharomyces cerevisiae* (1,82%; 1,06%; 0,96%; 0,81%; 0,84%; 0,87%; dan 0,85%), *Rhizopus oryzae* (1,82%; 0,71%; 0,84%; 0,83%; 0,70%; 0,81%; dan 1,05%), dan *Lactobacillus plantarum* (1,82%; 1,56%; 0,97%; 1,05%; 0,84%; 0,85%; dan 1,05%). HCN levels decreased for *Saccharomyces cerevisiae* (11,71 mg / kg to 6,11 mg / kg), *Rhizopus oryzae* (11,71 mg / kg to 5,60 mg / kg), and *Lactobacillus plantarum* (11,71 mg / kg to 8,15 mg / kg).

Keyword : Mocaf, *Lactobacillus plantarum*, *Rhizopus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*

DAFTAR NOTASI

No	Notasi	Keterangan	Satuan
1.	N	Normalitas	N
2.	V	Volume	L
3.	E_{qwt}	Berat Equivalen	g/mol.Eq
4.	W	Berat Sample	Gram
5.	A	Berat Cawan porselen kosong	Gram
6.	B	Berat cawan abu porselen dengan sampel sebelum dikeringkan	Gram
7.	C	Berat cawan abu porselen dengan sampel setelah dikeringkan	Gram

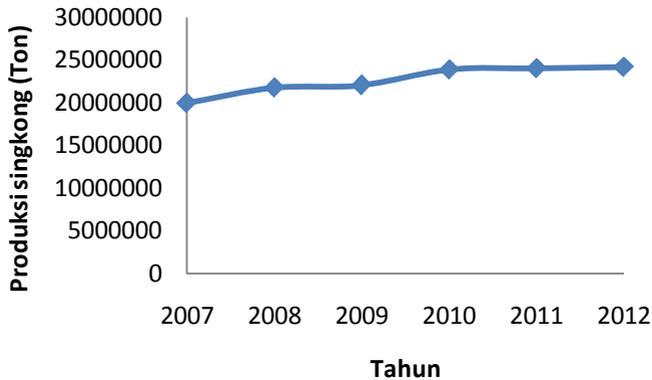
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Teori Penunjang

II.1.1 Singkong (*Manihot Esculenta*)

Singkong merupakan salah satu makanan pokok rakyat Indonesia selain beras dan jagung. Tanaman palawija ini telah dikenal dan dibudidayakan secara luas di hampir seluruh wilayah Indonesia. Selama lima tahun terakhir, produksi singkong Indonesia terus meningkat secara konsisten.



Gambar II.1 Perkembangan Produksi Singkong Indonesia, Tahun 2007-2012



Gambar II.2 Singkong (*Manihot Esculenta*)

Klasifikasi Ilmiah :

Kerajaan : Plantae
Devisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Malpighiales
Famili : Euphorbiaceae
Upafamili : Crotonoideae
Bangsa : Manihotaea
Genus : Manihot
Spesies : Manihot esculenta

(Pelczar dan Reid, 1974)

Tabel II.1 Komposisi Yang Terkandung Dalam Singkong

Komponen	/100 gram singkong
Kalori	121 kal
Air	62,50 gram
Fosfor	40 miligram
Karbohidrat	34 gram
Kalsium	33 miligram
Protein	1,2 gram
Besi	0,7 miligram
Lemak	0,3 gram
Vitamin B1	0,01 miligram
HCN	20 miligram
Phytates	216 miligram
Tannin	0,4 miligram

(Sarkiyayi and Agar, 2010)

II.1.2 Mocaf (Modified Cassava Flour)

Mocaf (Modified Cassava Flour) adalah tepung dari singkong atau singkong (*Manihot esculenta*) yang diproses dengan memodifikasi sel singkong secara fermentasi. Tahapan dalam pembuatan tepung mocaf yang pertama yaitu mikroba yang tumbuh akan menghasilkan enzim pektinolitik dan sellulolitik

yang dapat menghancurkan dinding sel singkong sedemikian rupa sehingga terjadi liberasi granula pati (Subagio, 2007).

Granula pati singkong akan mengalami hidrolisis yang menghasilkan monosakarida sebagai bahan baku untuk menghasilkan asam-asam organik. Senyawa asam ini akan terimbibisi dalam bahan, dan ketika bahan tersebut diolah akan dapat menghasilkan aroma dan cita rasa khas yang dapat menutupi aroma dan citarasa singkong yang cenderung tidak disukai konsumen (Subagio, 2007).

Selama proses fermentasi terjadi pula kehilangan komponen pembentuk warna, yaitu pigmen (khususnya pada ketela kuning), dan protein yang dapat menyebabkan warna coklat ketika pemanasan, sehingga warna *mocaf* yang dihasilkan lebih putih jika dibandingkan dengan warna tepung ubi kayu biasa. Proses ini juga akan menghasilkan tepung yang secara karakteristik dan kualitas hampir menyerupai tepung dari gandum atau tepung terigu, sehingga produk *mocaf* sangat cocok untuk menggantikan bahan terigu untuk kebutuhan industri makanan (Subagio, 2007).

Selama ini tepung singkong digunakan secara terbatas untuk *food ingredient*, seperti substitusi terigu sebesar 5% pada mie instan yang menghasilkan produk dengan mutu rendah, atau pada kue kering. Namun tepung ini sangat luas penggunaannya untuk bahan baku industri non pangan, seperti lem. Dengan karakteristik yang telah diuraikan di atas, *mocaf* dapat digunakan sebagai *food ingredient* dengan penggunaan yang sangat luas. Hasil uji coba penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *mocaf* dapat digunakan sebagai bahan baku dari berbagai jenis makanan, mulai dari mie, *bakery*, *cookies* hingga makanan semi basah. Kue brownish, kue kukus dan *sponge cake* dapat dibuat dengan berbahan baku *mocaf* sebagai campuran tepungnya hingga 80%. *Mocaf* juga dapat menjadi bahan baku beragam kue kering, seperti *cookies*, nastar, dan kastengel. Untuk kue basah, *mocaf* dapat diaplikasikan pada produk yang umumnya berbahan baku tepung beras, atau tepung terigu dengan ditambah tapioka.

Namun demikian, produk ini tidaklah sama persis karakteristiknya dengan tepung terigu, beras atau yang lainnya. Sehingga dalam aplikasinya diperlukan sedikit perubahan dalam formula, atau prosesnya sehingga akan dihasilkan produk yang bermutu optimal. Untuk produk berbasis adonan, *mocaf* akan menghasilkan mutu prima jika menggunakan proses *sponge dough method*, yaitu penggunaan biang adonan. Disamping itu, adonan dari *mocaf* akan lebih baik jika dilakukan dengan air hangat (40-60⁰C).

Mocaf dapat mensubstitusi tepung terigu hingga tingkat substitusi 15% pada produk mi bermutu tinggi dan hingga 25% untuk mie bermutu rendah. Beberapa kelebihan *mocaf* adalah aman untuk para penderita diabetes, aman untuk para penderita autis, tidak mengandung kolesterol, memiliki masa simpan hingga 12 bulan, tekstur lebih lembut dibanding terigu, dan harga yang lebih murah. Namun *mocaf* juga memiliki beberapa kekurangan yaitu kandungan proteinnya sedikit dan tidak memiliki kandungan gluten seperti pada terigu sehingga harus dibantu penggunaan telur atau dicampur dengan terigu (Subagio, 2007) .



Gambar II.3 Tepung Mocaf

Tabel II.2 Karakteristik Tepung Mocaf yang Baik

Komponen	%
Kadar Air	8,2
Kadar Karbohidrat	81,8
Kadar Protein	1,5
Kadar Lemak	0,1
Serat Kasar	2,3
Kadar Abu	1,4
Kalsium	45,6 mg/100g
Besi	2,2 mg/100g
Fosfor	58,9 mg/100g
HCN	10 ppm

(Subagio, 2007)

II.1.3 Fermentasi

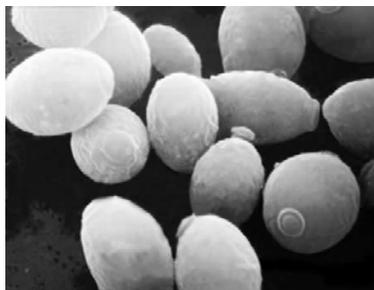
Fermentasi berasal dari bahasa latin *fervere* yang artinya mendidihkan, yang berdasarkan ilmu kimia terbentuknya gas-gas dari suatu cairan kimia yang pengertiannya berbeda dengan air mendidih. Gas yang terbentuk tersebut di antaranya karbondioksida (CO₂) (Afrianti, H. L., 2004). Fermentasi sebenarnya mengaktifkan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba membentuk alkohol dan asam, dan menekan pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik. Beberapa contoh hasil fermentasi adalah etanol, asam laktat, dan hidrogen. Fermentasi ada tiga macam yaitu fermentasi alkohol, fermentasi asam laktat dan fermentasi asam cuka.

Singkong mempunyai kandungan HCN atau toksisitas yang tinggi. Toksisitas pada singkong disebabkan oleh glukosida sianogenik, linamarin, dan lotaustalin yang berada pada seluruh bagian tumbuhan, kecuali pada biji. Fermentasi adalah salah satu metode yang dapat mengurangi glukosida sianorganik pada singkong. Fermentasi juga menghasilkan senyawa volatil yang memberikan flavor unik pada produk. Proses fermentasi juga meningkatkan kadar protein dari 1,5 % menjadi 5,6 %. Hal ini terjadi karena bakteri alami yang memfermentasi mudah mereduksi produk singkong yang mungkin saja mensekretasi

enzim ekstraseluler dalam serat singkong. Enzim tersebut meningkatkan kadar protein dalam *mocaf*. Sedangkan lemak tidak mengalami proses fermentasi oleh bakteri. Lemak hanya mengalami sedikit reaksi hidrolisis saat perendaman.

II.1.4 Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*)

Ragi yang digunakan dalam pembuatan tepung *mocaf* diantaranya *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oryzae*, selain ragi juga dapat digunakan bakteri *Lactobacillus plantarum*. *Saccharomyces* merupakan genus khamir/ragi/yeast yang memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO₂. *Saccharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu tidak berklorofil, termasuk termasuk kelompok Eumycetes. Tumbuh baik pada suhu 30 °C dan pH 4,8. Beberapa kelebihan *saccharomyces* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber carbon, unsur N yang diperoleh dari penambahan urea, ZA, amonium dan pepton, mineral dan vitamin. Suhu optimum untuk fermentasi antara 28 – 30 °C. Beberapa spesies yang termasuk dalam genus ini diantaranya yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boullardii*, dan *Saccharomyces uvarum*.



Gambar II.4 *Saccharomyces cerevisiae*

Klasifikasi Ilmiah

Kerajaan : *Fungi*

Filum : *Ascomycota*

Kelas : *Saccharomycetes*

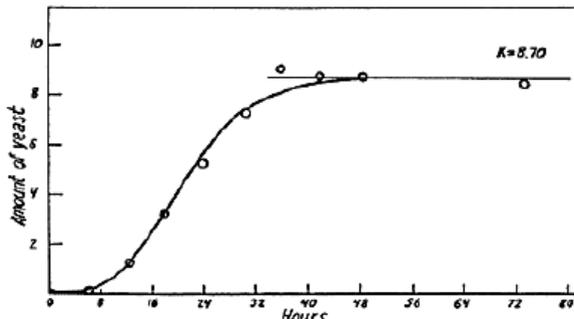
Ordo : *Saccharomycetales*

Famili : *Saccharomycetaceae*

Genus : *Saccharomyces*

Species : *Saccharomyces cerevisiae*

Pada dasarnya pertumbuhan sel mikroba dapat berlangsung tanpa batas, akan tetapi karena pertumbuhan sel mikroba berlangsung dengan mengonsumsi nutrisi sekaligus mengeluarkan produk-produk metabolisme yang terbentuk, maka setelah waktu tertentu laju pertumbuhan akan menurun dan akhirnya pertumbuhan berhenti sama sekali. Berhentinya pertumbuhan dapat disebabkan karena berkurangnya beberapa nutrisi esensial dalam medium atau karena terjadinya akumulasi autotoksin dalam medium atau kombinasi dari keduanya. Adapun kurva pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar II.5 Kurva Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Dari gambar 2.2 menunjukkan pertumbuhan dari ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang mula-mula lambat, lalu cepat, dan akhirnya melambat saat mendekati nilai tertentu. Pada waktu ke 0-6 *Saccharomyces cerevisiae* mengalami fase adaptasi untuk

menyesuaikan dengan substrat dan kondisi lingkungan disekitarnya. Pada waktu ke 7-11 *Saccharomyces cerevisiae* mengalami proses membelah dengan kecepatan masih rendah karena baru selesai tahap menyesuaikan diri, fase ini disebut fase pertumbuhan awal. Pada waktu ke 12-42 *Saccharomyces cerevisiae* membelah dengan cepat dan konstan. Pada waktu ini jumlah *Saccharomyces cerevisiae* meningkat dengan kecepatan eksponensial, fase ini disebut fase logaritmik Pada waktu ke 43-168 memasuki fase stasioner dimana fase ini jumlah mikroba yang hidup sebanding dengan yang mati. Dengan demikian semakin berkurangnya jumlah nutrisi *Saccharomyces cerevisiae* dan substrat, sehingga *Saccharomyces cerevisiae* akan semakin menurun dengan bertambahnya waktu. *Saccharomyces cerevisiae* akan mengubah 70 % glukosa di dalam substrat menjadi karbondioksida dan alkohol.

(Pelczar dan Reid, 1974)

II.1.5 Ragi Tempe (*Rhizopus oryzae*)

Rhizopus oryzae merupakan jamur yang sering digunakan dalam tempe. Jamur *rhizopus* dapat dikonsumsi karena tidak menghasilkan toksin dan mampu menghasilkan asam laktat. *Rhizopus oryzae* dapat tumbuh pada suhu optimal 35 °C, min 5-7 °C, max 44 °C Secara umum jamur juga membutuhkan air untuk pertumbuhannya, tetapi kebutuhan air untuk jamur lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri. Selain pH dan kadar air, jumlah nutrisi dalam bahan juga dibutuhkan oleh jamur.

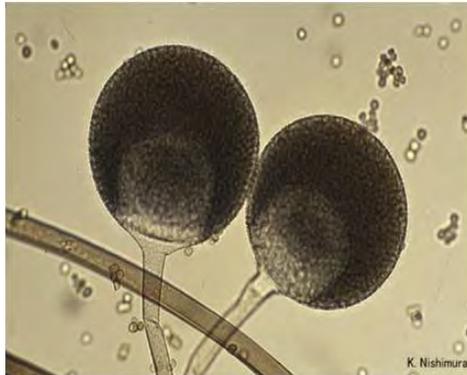
Berdasarkan asam laktat yang dihasilkan *Rhizopus oryzae* termasuk mikroba heterofermentatif (Kuswanto dan Slamet, 1989). Jamur ini mempunyai kemampuan mengurai lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino, selain itu jamur ini dapat menghasilkan protease. Proteolitik enzim, juga disebut Proteinase, salah satu dari kelompok enzim yang memecah molekul seperti rantai panjang protein menjadi fragmen pendek (peptida) dan akhirnya menjadi komponen-komponen mereka, asam amino.

Dalam kasus ini jamur ini digunakan dalam fermentasi singkong dalam proses pembuatan tepung mocaf, dikarenakan jamur ini dapat meningkatkan kandungan protein yang ada dalam singkong tersebut hingga 11% (A.A. Akindahunsi, G. Oboh, A.A Oshodi, 1999).

Ciri-ciri dari kapang *Rhizopus oryzae* adalah

1. Miseliumnya aseptat atau senositik
2. Spora aseksual: sporangiospora kadang-kadang dengan konidia,
3. Spora seksual: zigospora oospora,
4. Habitat alaminya di air, tanah, tumbuhan dan hewan (Pelczar dan Chan, 1974).

Rhizopus oryzae mempunyai siklus reproduksi secara generatif dan vegetatif. Spora kapang dapat terbentuk pada kedua siklus tersebut. Selain itu, *Rhizopus oryzae* juga bersifat heterothallic, yaitu reproduksi seksual (generatif) dilakukan melalui fusi atau kapsulasi dari dua gametangia yang ukurannya seimbang. Fusi ini kemudian akan menghasilkan zigospora yang kemudian akan berkembang dan mengalami pembelahan meiosis yang diikuti oleh reduksi inti menjadi haploid. Pada saat germinasi, dinding sel zigospora akan pecah dan menghasilkan sporangium. Sporangium tersebut kemudian akan menghasilkan spora sebagai alat reproduksi seksual. Sedangkan perkembangbiakan secara vegetatif (aseksual) adalah dengan pembentukan fraksi miselium aseksual maupun sporangia secara aseksual (tidak terjadi proses peleburan dua sel).



Gambar II.6 *Rhizopus oryzae*

Klasifikasi

Kingdom : Fungi
Divisio : Zygomycota
Class : Zygomycetes
Ordo : Mucorales
Familia : Mucoraceae
Genus : *Rhizopus*
Species : *Rhizopus oryzae*

(Pelczar dan Reid, 1974)

II.1.6 Bakteri *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus adalah genus bakteri gram-positif, anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik. Genus bakteri ini membentuk sebagian besar dari kelompok bakteri asam laktat, dinamakan demikian karena kebanyakan anggotanya dapat mengubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat. Kebanyakan dari bakteri ini umum dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Beberapa spesies *Lactobacillus* sering digunakan untuk industri pembuatan yogurt, keju, sauerkraut, acar, bir, anggur (minuman), cuka, kimchi, coklat, dan makanan hasil fermentasi lainnya, termasuk juga pakan hewan, seperti silase. Banyak laktobasili bersifat tak

umum, bakteri ini bekerja secara metabolisme homofermentatif (hanya membentuk asam laktat dari gula, bandingkan dengan laktobasili heterofermentatif yang dapat membentuk alkohol atau asam laktat dari gula) dan juga aerotoleran, walaupun tak memiliki sama sekali rantai pernapasan. Aerotoleransi ini bergantung pada mangan dan telah diteliti (dan dijelaskan) sebagai *Lactobacillus plantarum*. Banyak *Lactobacillus* tidak memerlukan besi untuk pertumbuhan dan memiliki toleransi hidrogen peroksida yang sangat tinggi.



Gambar II.7 *Lactobacillus plantarum*

Adapun klasifikasi dari *Lactobacillus plantarum* adalah sebagai berikut :

- Kerajaan : Bacteria
- Divisi : Firmicutes
- Kelas : Bacilli
- Ordo : Lactobacillales
- Famili : Lactobacillaceae
- Genus : *Lactobacillus*
- Spesies : *Lactobacillus plantarum*

(Pelczar dan Reid, 1974)

II.2. Studi Hasil Penelitian Sebelumnya

1. **Sarkiyayi dan Agar. 2010.** Analisa perbandingan pada kandungan zat nutrisi dan zat anti nutrisi pada varietas *sweet cassava* dan *bitter cassava*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan zat nutrisi dan zat anti nutrisi pada varietas *sweet cassava* dan *bitter cassava*. Metode penelitian menggunakan *standart analytical techniques*. Didapatkan dari hasil analisa untuk *sweet* dan *bitter cassava* : (%) *Moisture contents* 0.82 dan 0.14, *Ash* 2.71 dan 1.85, *Crude fiber* 4.40 dan 4.61, *Crude protein* 2.69 dan 3.37, *Crude lipid* 3.92 dan 3.82, *total carbohydrate* 85.46 dan 86.21%, *calcium* 33 dan 30 mg/100g, *phosphorus* 52 dan 80mg/100g , *iron* 30 dan 18 mg/100g , *cyanogenic glycosides* 0.46 dan 0.65 mg/100g, *Trypsin inhibitor* 1.0 dan 4.0 mg/100g, *oxalates* 22.0 dan 44.0 mg/100g, *phytate* 216 dan 304 mg/100g dan *tannin* 0.40 dan 0.60 mg/100g.
2. **Oboh, dkk. 1999.** Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) difermentasi dengan *Rhizopus oryzae*. Produk ini kemudian diolah menjadi gari dan tepung. Evaluasi gizi tepung dan gari menunjukkan bahwa ada peningkatan kandungan protein tepung (97%) dan gari (53%) ditentukan dengan metode Kjeldahl, sementara ada penurunan umum dalam tingkat karbohidrat, [tepung (5,0%), gari (10,4%)]. Tidak ada peningkatan dalam, abu dan lipid. Mineral (Zn, Mg, Fe., Ca, Na dan K) juga rendah, kecuali dalam gari di mana beberapa unsur yang sangat rendah. Para antinutrients, yaitu, tanin [0.16mgTA/100g tepung), gari (0.08mg/100g)] dan total sianida [pulp (17.21mg/kg), gari (14.85mg/Kg)] kecuali fitat [tepung (1497.18mg/100g), gari (912.26mg/100g)] sangat rendah. Ini berarti bahwa *Rhizopus oryzae*, suatu jamur murah dan non-patogen, dapat digunakan untuk meningkatkan tingkat protein dan pada saat yang sama, mengurangi tanin dan sianida.

3. **Oboh, dkk. (2001)** *Aspergillus niger* diisolasi dan dikultur menggunakan agar-agar dan kaldu. Digunakan untuk memfermentasi 1 kg singkong selama 72 jam yang dibagi 6 bagian. Tiga bagian dari fermentasi singkong masing-masing disaring dan goreng dalam panci panas untuk gari, sedangkan tiga lainnya masing-masing dikeringkan dan digiling untuk tepung singkong. Hasil analisis proksimat mengungkapkan bahwa ada peningkatan yang signifikan dalam kandungan protein (tepung ($12.2 \pm 0.2\%$) gari (7.3 ± 0.1)) ditentukan oleh mikro-Kjeldhal metode serta kandungan lemak (tepung ($5.7 \pm 0.1\%$), gari ($4.0 \pm 0.3\%$)) dari proses fermentasi singkong menggunakan *Aspergillus niger*. Fermentasi ini juga menurunkan kadar HCN, sianida (tepung (9.1 ± 0.2 mg / kg), gari (4.1 ± 0.2 mg / kg)) dan tanin (0,2%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Aspergillus niger*, murah non-patogen saprofit, memiliki kemampuan untuk meningkatkan potensi gizi dari produk singkong dengan meningkatkan protein dan lemak dan penurunan tingkat sianida dan tanin (anti-nutrisi).
4. **Oboh dan Akindahuni. (2002)** Dalam upaya untuk meningkatkan kualitas gizi dari produk singkong (tepung dan gari), *Saccharomyces cerevisiae* digunakan dalam fermentasi singkong. Yang di olah menjadi tepung dan gari. Hasilnya menunjukkan bahwa ada peningkatan yang signifikan dalam protein [tepung (10,9%), gari (6,3%)] dan lemak [tepung (4,5%), gari (3,0%)]. Sebaliknya, ada penurunan yang signifikan dalam kandungan sianida [tepung (9,5 mg / kg), gari (9,1 mg / kg)], karbohidrat [tepung (77,9%), gari (84,5%)] dan mineral (Zn, Mg, Fe, Ca, Na dan K), kecuali dalam fermentasi gari di mana ada peningkatan yang signifikan dalam isi Mg dan Fe. Namun, Fermentasi singkong dengan *Saccharomyces cerevisiae* tidak ada perubahan signifikan dalam serat dan abu. Logam berat, seperti Cu, Ni dan Pb, tidak terdeteksi baik dalam difermentasi atau tidak difermentasi. Selanjutnya,

peningkatan nutrisi lebih tinggi pada tepung singkong sedangkan penurunan antinutrient lebih tinggi di gari. Ini dapat disimpulkan bahwa *Saccharomyces cerevisiae*, sebuah aerob murah dan non-patogen saprophytic, dapat digunakan untuk meningkatkan nutrisi potensial produk singkong dengan meningkatkan nutrisi (protein dan lemak) dan kadar HCN menurun.

5. **Oboh dan Akindahuni. (2003)** *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi tepung singkong selama 72 jam untuk meningkatkan kandungan protein pada tepung singkong. Proses fermentasi ini tidak berbahaya bagi kesehatan, karena tidak menyebabkan hematologis dan kerusakan hati. Hal ini sudah dibuktikan dengan menggunakan seekor tikus albino yang diberi tepung singkong (40%) selama 21 hari.
6. **Inayara dkk, (2004)** Pati singkong asam adalah makanan fermentasi tradisional. Sampel diperiksa adanya bakteri asam laktat, ragi, mikroorganisme mesofilik, *Bacillus cereus* dan fekal coliform. Bakteri asam laktat dan ragi isolat diidentifikasi dengan tes biokimia, dan identitas dikonfirmasi dengan metode molekuler. *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* adalah bakteri asam laktat antara 6,0 dan 9,0 log cfu g⁻¹. *Lactobacillus perolans* dan *brevis* adalah minor fraksi. *Galactomyces geothricum* dan *Issatchenkia sp.* adalah ragi lazim dengan jumlah 5,0 log cfu g⁻¹.
7. **Huang dkk. 2005.** Kinetika biokimia sakarifikasi simultan dan fermentasi (SSF) untuk produksi asam laktat oleh spesies jamur *Rhizopus arrhizus* 36017 dan *Rhizopus oryzae* 2062 dipelajari sehubungan dengan pH pertumbuhan dan suhu substrat. Keduanya, *R. arrhizus* 36017 dan *R. Oryzae* 2062 memiliki kapasitas untuk melaksanakan tahap proses SSF tunggal untuk produksi asam laktat dari air limbah tepung kentang. Karakteristik kinetik, disebut sebagai hidrolisis pati, akumulasi dari pengurangan gula, produksi

asam laktat dan pembentukan biomassa jamur, dipengaruhi dengan berbagai macam pH, suhu, sumber pati dan konsentrasi. Kondisi pertumbuhan dengan konsentrasi pati sekitar 20 g / l pada pH 6,0 dan 30 C yang menguntungkan untuk kedua sakarifikasi pati dan fermentasi asam laktat, sehingga asam laktat hasil dari 0,85-0,92 g / g terkait dengan 1,5 - 3, 5 g / l biomassa jamur diproduksi dalam 36-48 jam fermentasi *R. arrhizus* 36017 memiliki kapasitas yang lebih tinggi untuk menghasilkan asam laktat, sementara *R.oryzae* 2062 menghasilkan asam laktat, sementara *R.oryzae* 2062 menghasilkan biomassa jamur lebih dalam kondisi serupa.

8. **Kostinek dkk, 2006.** Sebanyak 375 bakteri asam laktat diisolasi dari fermentasi singkong di Afrika Selatan, Benin, Kenya dan Jerman. Dibagi menjadi lima kelompok utama yang terdiri dari strain batang fakultatif heterofermentative, obligately heterofermentative batang, coccus heterofermentative, cocci dan batang obligately homofermentative homofermentative. Sebagian besar batang fakultatif heterofermentative diidentifikasi dengan tes fenotipik sebagai *Lactobacillus Plantarum* group yang juga terdiri dari bakteri paling dominan (54,4% dari strain) diisolasi. Kelompok dominan berikutnya laktat bakteri asam (14,1% dari isolat total) terdiri dari batang obligately milik heterofermentative baik ke *Lactobacillus* genus atau *Weissella*, diikuti oleh cocci heterofermentative (13,9% dari isolat) milik *Weissella* genera atau *Leuconostoc*. Homofermentative coccus yang juga terisolasi (13,3% dari isolat). Strain tersebut, 18 telah diidentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum*, empat sebagai *Entosus Lactobacillus*, dua masing-masing sebagai *fallax Leuconostoc*, dan *Lactobacillus paramesenteroides Weissella fermentum*, satu *Leuconostoc mesenteroides*. Dari 32 total 16 strain akhirnya dipilih untuk pengembangan sebagai budaya starter untuk produksi Gari.

9. **Zhang dkk. 2007.** Produksi asam laktat dari material yang terbatukan oleh jamur *Rhizopus*. Asam laktat umumnya yang terjadi adalah asam organik, yang bernilai karena penggunaan yang makanan dan industry makanan yang terkait, dan berpotensi sebagai produk yang *biodegradable* dan polimer polyacetate yang *biocompatible*. Asam laktat dapat diproduksi dari material yang dapat diperbarui dengan menggunakan berbagai macam spesies jamur dari genus *Rhizopus*, yang keunggulannya dapat dibandingkan dengan bakteri, termasuk karakteristik dari amyolitik nya, persyaratan rendah gizi dan nilai fermentasi dengan produk biomass jamur. Jurnal ini review penelitian baru dalam rekayasa proses, metabolic dan mekanisme enzim dan bioteknologi molecular yang terkait dengan produksi asam laktat oleh jamur *Rhizopus* untuk mendapatkan pemahaman yang lebih baik dalam aktivitas biokimia. Komponen utama dari proses : material yang dapat diperbarui, system bioreactor dan review dari permodelan proses. Peran kunci parameter bioproses, seperti komponen nutrient, pH, morfologi pertumbuhan, termasuk produksi asam laktat dibahas detail. Di samping itu, kemajuan terbaru dalam sakarifikasi simultan dan fermentasi, pendekatan molecular genetika, enzimatik dan jalur metabolik yang terlibat dalam produksi asam laktat oleh strain jamur dibahas.
10. **Henshaw dan Ikpoh. 2009** Pengaruh kultur starter bakteri tunggal pada pengurangan bau selama fermentasi terkontrol umbi singkong untuk produksi foo foo diselidiki. Kultur murni digunakan untuk fermentasi umbi singkong selama 90 jam. Kultur yang digunakan adalah *Bacillus subtilis*, *Klebsiela sp*, *Lactobacillus Plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides.L. plantarum* memiliki kemampuan penghasil asam yang tertinggi, menurunkan pH dari umbi singkong dari 6,2 menjadi 3,68 dengan peningkatan presentase asam laktat (TTA) dari 0,082% menjadi 0,290% pada fermentasi selama 96 jam. Besarnya perubahan pH dan TTA oleh

masing – masing organisme lain berkisar dari 4,88 dan 0,135% pada *Klebsiella sp.*, 4,68 dan 0,136% dari *L. mesenteroides* sampai 4,90 dan 0,139% dari *B. subtilis* dalam jangka waktu. Semua kultur yang ditemukan memiliki kontribusi yang berbeda terhadap pengurangan bau pada fermentasi singkong. *B. subtilis* berpengaruh besar mengurangi bau diikuti dengan *L. plantarum*.

11. **Gunawan dkk, 2013.** Pengaruh ragi roti, ragi tempe, dan *Lactobacillus plantarum* terhadap total asam laktat dan pH pada fermentasi singkong. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ragi roti, ragi tempe, dan bakteri *Lactobacillus plantarum* terhadap total asam laktat dan pH singkong yang difermentasi. Pada penelitian ini digunakan rasio C/N dari singkong 28,407. Analisa yang digunakan meliputi pengukuran keasaman (pH), total asam laktat, dan perhitungan total mikroorganisme dengan masing-masing metode menggunakan pH meter, metode titrasi, dan metode counting chamber. Kondisi pertumbuhan tiap mikroorganisme berbeda-beda, mereka bisa hidup sampai pada pH (4,37 ; 3,43 ; dan 3,93) untuk masing-masing ragi roti, ragi tempe dan bakteri *Lactobacillus plantarum*. Jumlah asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* pada 96 jam adalah 0,895% (wt/vol) untuk larutan dan 0,493% (wt/vol) untuk padatan. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan ragi roti dan ragi tempe masing-masing ((0,552%, 0,878%) (wt/vol) untuk larutan dan (0,173%, 0,228%) (wt/vol) untuk padatan). Tingkat pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan ragi roti dan ragi tempe.
12. **Gunawan dkk, 2012.** Pembuatan Mocaf (Modified Cassava Flour) dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Rhizopus oryzae*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui proses pembuatan dan kandungan nutrisi pada tepung mocaf dengan proses

fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Rhizopus oryzae*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

III.1 Variabel Penelitian

1. Waktu fermentasi = 0, 12, 24, 36, 48, 60, dan 72 jam
2. Mikroorganisme = Ragi tempe (*Rhizopus oryzae*), Ragi roti *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Lactobacillus plantarum*.

III.2 Kondisi Operasi

1. Penambahan bakteri/ragi = 10 juta sel mikroorganisme.
2. Suhu fermentasi = 30 °C

III.3 Respon

1. Kurva pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oryzae*, dan *Lactobacillus plantarum*.
2. Grafik kadar protein.
3. Grafik kadar lemak.
4. Grafik kadar abu.
5. Grafik kadar serat.
6. Grafik kadar HCN.
7. Grafik titrable acidity.

III.4 Bahan yang digunakan

- | | |
|------------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Singkong | 8. HCl |
| 2. <i>Lactobacillus plantarum</i> | 9. H ₂ SO ₄ |
| 3. <i>Rhizopus oryzae</i> | 10. Tablet Kjeldahl |
| 4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 11. CCl ₄ |
| 5. Aquadest | 12. Acetone |
| 6. Indikator PP. | 13. KOH |
| 7. NaOH | 14. KI |
| | 15. AgNO ₃ |

III.5 Alat yang digunakan

1. Pisau
2. Ember
3. Pamarut singkong
4. Oven
5. Labu Kjeldahl
6. Soklet ekstraktor
7. Erlenmeyer
8. Stirer magnetik
9. Labu alas bulat
10. Kondensor Liebig
11. Hot plate
12. Beaker glass
13. Buret
14. Statif
15. Pipet volume
16. Pipet tetes
17. Termometer
18. Kertas saring
19. Gelas ukur
20. Spatula
21. Gelas arloji
22. Furnace
23. Botol fermentasi
24. Neraca analitis
25. Microscope
26. Deck glass
27. Hemasitometer
28. Botol sample
29. Kassa
30. Eksikator
31. Cruss tang
32. Corong Buchner

III.6 Prosedur Penelitian

III.6.1 Pembuatan *Mocaf*

III.6.1.1 Persiapan Bahan

1. Singkong dikupas kulit luarnya.
2. Singkong yang sudah bersih dari kulitnya kemudian di rendam dalam air sambil di cuci dengan suhu 20 - 30 °C.
3. Setelah itu, singkong yang sudah bersih diparut dengan menggunakan alat pamarut singkong untuk diperoleh ukuran yang lebih kecil sehingga luas kontak semakin besar.

III.6.1.2 Pembuatan Starter

1. Singkong yang sudah diparut dimasukkan ke dalam botol fermentasi.
2. Kemudian ditambahkan ragi tempe (*Rhizopus oryzae*), ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dan bakteri *Lactobacillus*

- plantarum* dalam botol yang berbeda yang berbeda masing-masing 2 % dari berat singkong.
3. Kemudian ditambahkan aquadest sampai singkong terendam sekitar 3 : 2 dari volume singkong.
 4. Kemudian di inkubasi sampai jumlah sel mikroorganisme tersebut masing-masing mencapai 10 juta sel / ml.

III.6.1.3 Proses Fermentasi

1. Parutan singkong tersebut dimasukkan ke dalam botol fermentasi.
2. Kemudian larutan dari starter ditambahkan ke dalam botol fermentasi.
3. Kemudian di inkubasi selama 72 jam.

III.6.1.4 Proses Penepungan

1. Singkong yang telah difermentasi dikeringkan dalam oven suhu 50°C selama 2 jam.
2. Kemudian digiling sampai halus dan menjadi tepung.

III.6.2 Perhitungan Jumlah Sel Mikroorganisme

1. Untuk perhitungan jumlah sel mikroorganisme ini digunakan metode counting chamber yang dilakukan di lab mikrobiologi menurut (Diktat Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Institut Teknologi Sepuluh November, 2012). Pertama-tama ambil 1 ml sampel.
2. Kemudian melarutkannya dalam 10 ml aquadest ke dalam tabung reaksi dan diaduk hingga homogen.
3. Setelah itu sampel tersebut diambil sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan kembali ke dalam 100 ml aquades steril pada tabung reaksi selanjutnya, sehingga pengencerannya 1000x.
4. Ambil sampel menggunakan pipet tetes dan teteskan pada counting chamber kemudian ditutup dengan deck glass.

5. Kemudian letakkan di bawah mikroskop yang dilanjutkan dengan menghitung jumlah sel yang terdapat pada kotak A, B, C, D, dan E.
6. Kemudian ulangi langkah- tersebut untuk sampai tiga kali. dan hitung jumlah sel tersebut kemudian rata-rata. Dengan menggunakan rumus :

(a)
$$\text{Jumlah sel ragi\backslash bakteri rata - rata} = \frac{\text{jumlah sel per kotak}}{3}$$

(b)
$$\text{jumlah sel ragi\backslash bakteri} = (a) \times \text{jumlah pembesaran} \frac{\text{sel}}{\text{mm}^2}$$

(c)
$$\text{jumlah sel ragi\backslash bakteri} = \frac{(b)}{\text{ketebalan counting chamber}} \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3}$$

(d)
$$\text{jadi jumlah sel ragi\backslash bakteri pada pengenceran } 1.000x = (c) \times 1.000 \frac{\text{sel}}{\text{ml sampel}}$$

III.6.3 Analisa Titrable Acidity

1. Sebanyak 5 ml sampel larutan fermentasi dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
2. Ditetesi dengan indikator PP sebanyak 3 tetes.
3. Dititrasi dengan larutan NaOH 0,2N sampai warna merah pada larutan hilang.
4. Mencatat volume NaOH 0,2 N yang dibutuhkan.

$$\% \text{Total Asam} \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{N \times V_1 \times E_{qwt}}{V_2}$$

Ket :

N = Normalitas titran (NaOH) (mol/L)

V₁ = Volume titran (NaOH) (L)

E_{qwt} = Berat equivalen asam (g/Eq)

V₂ = Volume sampel (L)

III.6.4 Analisa Kadar Protein

1. Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl.
2. Ditambahkan tablet Kjeldahl sebanyak $\frac{1}{4}$ bagian kemudian tambahkan 10 ml H_2SO_4 pekat.
3. Memanaskan labu tersebut dengan pemanas labu Kjeldahl dalam ruang asam. Pemanasan dihentikan jika sudah tidak berasap dan warna larutan menjadi hijau/ kuning jernih (sekitar 1,5 jam). Labu Kjeldahl dibiarkan sampai dingin.
4. Memasukkan 50 ml aquadest ke dalam labu distilasi yang telah diisi dengan batu didih (pecahan kaca) kemudian menuangkan larutan yang ada di dalam labu Kjeldahl ke dalam labu distilasi. Labu Kjeldahl dibilas dengan 50 ml aquadest sedikit demi sedikit.
5. Menambahkan 30 ml larutan NaOH 40 % sedikit demi sedikit lalu tutup dengan sumbat karet dan digoyang-goyang secara pelan (usahakan tidak ada uap yang keluar dari labu distilasi).
6. Sebanyak 25 ml H_2SO_4 0,1 N dan 3 tetes indikator metil merah dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
7. Mendistilasi larutan di dalam labu distilasi hingga larutan dalam labu distilasi tinggal $\frac{1}{3}$ bagian. Uap NH_3 yang keluar ditampung di dalam erlenmeyer yang berisi larutan H_2SO_4 dan indikator tersebut.
8. Hasil distilasi yang ditampung dalam erlenmeyer dititrasikan menggunakan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna dari merah muda ke jingga.
9. Membuat blanko yang terdiri dari larutan 25 ml H_2SO_4 0,1 N dan 3 tetes indikator metil merah kemudian dititrasikan dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna.

$$\% \text{crude protein} = 6,25 \times \%N$$

$$\%N = \frac{\text{titer blanko} - \text{titer sampel} \times N \times 0,014}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Ket :

N = Normalitas NaOH

III.6.5 Analisa Kadar Lemak

1. Sebanyak 1,5 gram sampel (= A gram) dibungkus dengan kertas saring dan diikat dengan benang.
2. Mengeringkan dalam oven 105°C selama 3-4 jam dan dimasukkan dalam eksikator 10-15 menit kemudian ditimbang (= B gram).
3. Diletakkan di dalam ekstraktor (Soxhlet) dan diekstrak dengan solvent CCl₄ selama 4-6 jam di atas penangas air sampai warna CCl₄ kembali jernih seperti semula.
4. Menuangkan sisa cairan pelarut yang ada dalam Soxhlet dan mengambil bungkus sampel menggunakan crusstang dan dimasukkan ke dalam oven 105°C selama 3-4 jam.
5. Sampel dimasukkan ke dalam eksikator selama 10-15 menit kemudian ditimbang (= C gram).

$$\% \text{ lemak} = \frac{B - C}{A} \times 100\%$$

III.6.6 Analisa Kadar Abu

1. Cawan kosong dan bersih dipanaskan pada suhu oven 105°C selama 1 jam
2. Masukkan ke dalam eksikator selama 10-15 menit kemudian ditimbang (= A gram).
3. Sebanyak 5 gram sampel ditaruh di dalam cawan. Berat cawan + sampel = B gram.
4. Cawan kemudian dibakar dengan api bunsen sampai tidak lagi berasap kemudian cawan tersebut diletakkan dalam furnace pada suhu 700°C selama 1-5 jam.
5. Mematikan furnace dan membiarkan cawan berisi sampel sampai dingin selama 10 jam.

6. Kemudian cawan dimasukkan dalam eksikator selama 10-15 menit dan ditimbang (= C gram)

$$\%ash = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

III.6.7 Analisa Kadar Serat

1. Sebanyak 1 gram sampel (= A gram) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 300 ml dan ditambahkan 50 ml H₂SO₄ 0,3 N.
2. Dipanaskan 100°C hingga mulai mendidih selama 30 menit.
3. Kemudian ditambahkan 25 ml NaOH 1,5 N dan dididihkan kembali selama 30 menit.
4. Alasi corong Buchner dengan kertas saring yang telah diketahui beratnya (= B gram). Menyaring larutan dalam erlenmeyer dengan menggunakan corong Buchner, dan membilas erlenmeyer dengan 50 ml air panas dan saring kembali.
5. Memasukkan 50 ml HCl 0,3 N ke dalam corong Buchner dan biarkan selama 1 menit kemudian hisap dengan kompresor melalui lubang yang ada pada erlenmeyer hisap.
6. Membilas residu dalam corong Buchner dengan air panas beberapa kali (5 kali), Kemudian menambahkan 5 ml acetone ke dalamnya. Biarkan selama 1 menit lalu dihisap dengan kompresor.
7. Memanaskan cawan porselen selama 1 jam dalam oven 105°C, didinginkan dalam eksikator 10-15 menit kemudian ditimbang (= C gram). Angkat kertas saring yang berisi residu dan diletakkan dalam cawan porselen tersebut kemudian dikeringkan dalam oven 105°C selama 1,5 jam dan didinginkan dalam eksikator selama 30 menit lalu ditimbang (= D gram).
8. Memasukkan cawan tersebut dalam furnace 550°C selama 2 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam eksikator selama 15 menit dan ditimbang (= E gram).

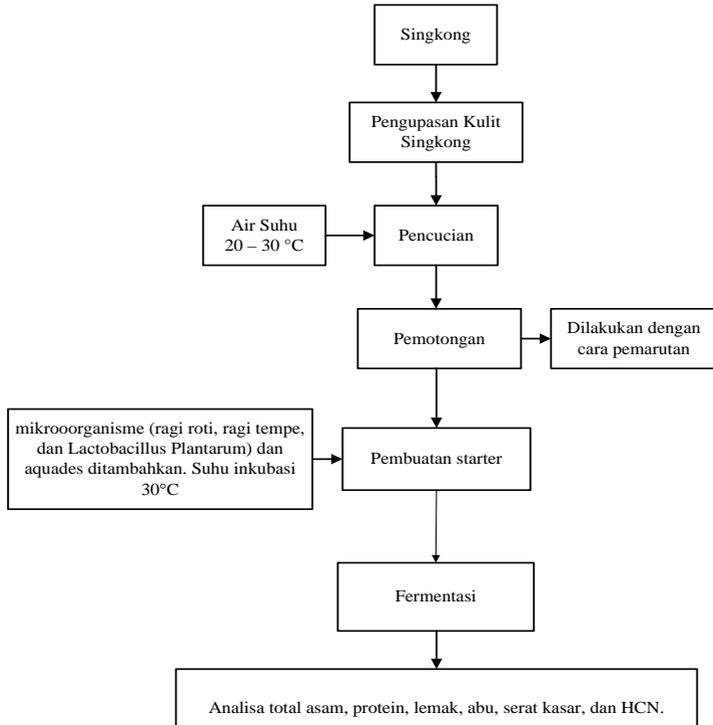
$$\% \text{serat kasar} = \frac{D - E - B}{A} \times 100\%$$

III.6.8 Analisa Kadar HCN

1. Menimbang sampel sebanyak 20 gram lalu ditambahkan dengan 100 ml aquadest dan diletakkan pada labu Kjeldahl.
2. Dilakukan perendaman selama 2 jam.
3. Setelah itu ditambahkan lagi 100 ml aquades, kemudian didistilasi dengan uap (steam).
4. Menampung distilat dalam erlenmeyer berisi 20 ml NaOH 2,5%.
5. Setelah distilat mencapai 150 ml, tambahkan 8 mL NH₄OH, 5 mL KI 5% dan dititrasi dengan 0,02 N AgNO₃ sampai terjadi kekeruhan (letakkan kertas karbon hitam dibawah labu titrasi).

$$\text{berat HCN} = \frac{\text{ml titer (blangko - sampel)}}{\text{ml titer blanko}} \times \frac{20 \times N \text{ AgNO}_3}{\text{kg sampel}} \times 0,54 \text{ mg}$$

III.7 Diagram Alir Penelitian



Gambar III.1 Diagram alir penelitian

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemanfaatan singkong sebagai bahan pangan masih terbatas biasanya hanya digunakan sebagai tepung tapioka, gaplek, dan tiwul. Penggunaannya dalam bidang panganpun juga masih jarang karena kandungan asam sianidanya yang tinggi. Untuk meningkatkan pemanfaatan singkong dapat dilakukan dengan mengubah singkong menjadi *mocaf* yaitu dengan proses fermentasi. Proses fermentasi ini menggunakan Ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*), ragi tempe (*Rhizopus oryzae*), dan *Lactobacillus plantarum*. Lamanya fermentasi mempengaruhi kandungan zat gizi dan anti gizi yang terdapat dalam tepung *mocaf*. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil-hasil sebagai berikut.

IV. 1 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme

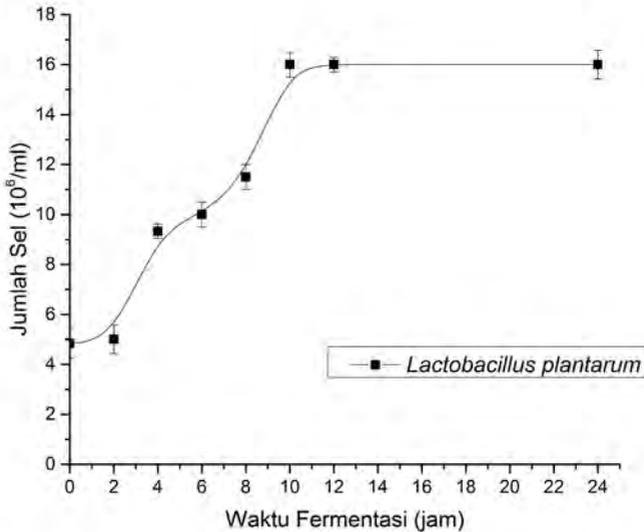
Kurva pertumbuhan dibutuhkan untuk mengetahui jumlah sel/spora dari ketiga mikroorganisme yaitu Ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*), ragi tempe (*Rhizopus oryzae*), dan *Lactobacillus plantarum*. Dari kurva pertumbuhan ini dapat ditentukan waktu yang dibutuhkan untuk masing-masing mikroorganisme untuk mencapai jumlah sel tertentu, yang nantinya akan digunakan sebagai kondisi awal untuk proses pembuatan *Mocaf*.

Dalam pembuatan kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* pada percobaan ini, kita melakukan pengamatan setiap 2 jam, sedangkan untuk *Rhizopus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* kita melakukan untuk setiap 12 jam. Hal ini dikarenakan karakteristik dari masing-masing mikroorganisme ini berbeda-beda, dan masing-masing dari mereka memiliki kecepatan tumbuh yang berbeda.

Berdasarkan penelitian Smetanková (2012), Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* diamati melalui nilai *Optical density* (OD). Mikroorganisme ini mengalami fase pertumbuhan

eksponensial pada jam ke-2 hingga jam ke-8 untuk suhu sebesar 37°C dan 45°C, dan fase pertumbuhan eksponensial ini menjadi lebih lama pada suhu 30°C hingga jam ke 10

Berdasarkan penelitian sebelumnya tersebut, maka peneliti memutuskan untuk melakukan perhitungan jumlah *Lactobacillus plantarum* setiap 2 jam sekali. Dan berdasarkan perhitungan yang dilakukan, didapatkan kurva pertumbuhan untuk mikroorganisme *Lactobacillus plantarum* seperti pada gambar di bawah ini:



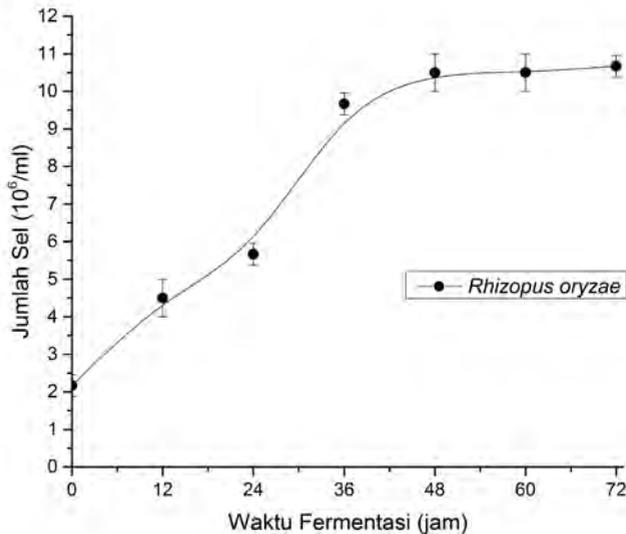
Gambar IV.1. Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Perhitungan jumlah *Lactobacillus plantarum* berhenti pada jam ke 24 karena jumlah sel yang dibutuhkan untuk proses fermentasi telah mencapai jumlah yang dibutuhkan.

Sedangkan untuk perhitungan jumlah *Rhizopus oryzae* dilakukan setiap 12 jam, hal ini berdasarkan penelitian Meletiadis et al (2003), pertumbuhan *Rhizopus oryzae* yang mengalami fase

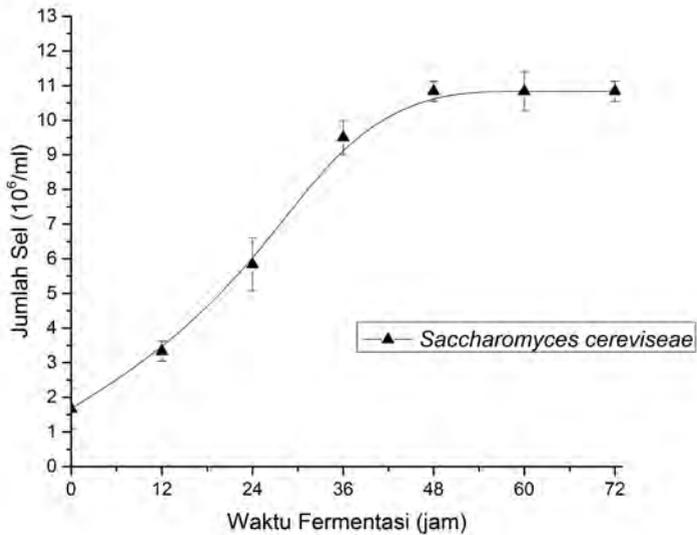
pertumbuhan eksponensial ketika mencapai waktu lebih 6 jam (8 hingga 13 jam) pada penggunaan 0 mg/l zat antifungal.

Dan berdasarkan penelitian sebelumnya tersebut, maka perhitungan jumlah mikroorganisme untuk *Rhizopus oryzae* adalah setiap interval 12 jam. Kurva yang didapatkan dari perhitungan *Rhizopus oryzae* adalah sebagai berikut



Gambar IV.2. Kurva Pertumbuhan *Rhizopus oryzae*

Berdasarkan pada penelitian Wignyanto et al (2001), yang menggunakan lama fermentasi hingga waktu 4 hari, menunjukkan bahwa dilihat peningkatan jumlah signifikan dari hari ke 0 hingga ke 1 (24jam). Sehingga perhitungan jumlah mikroorganisme juga menggunakan interval sebesar 12 jam. Hasil yang didapat adalah sebagai berikut:



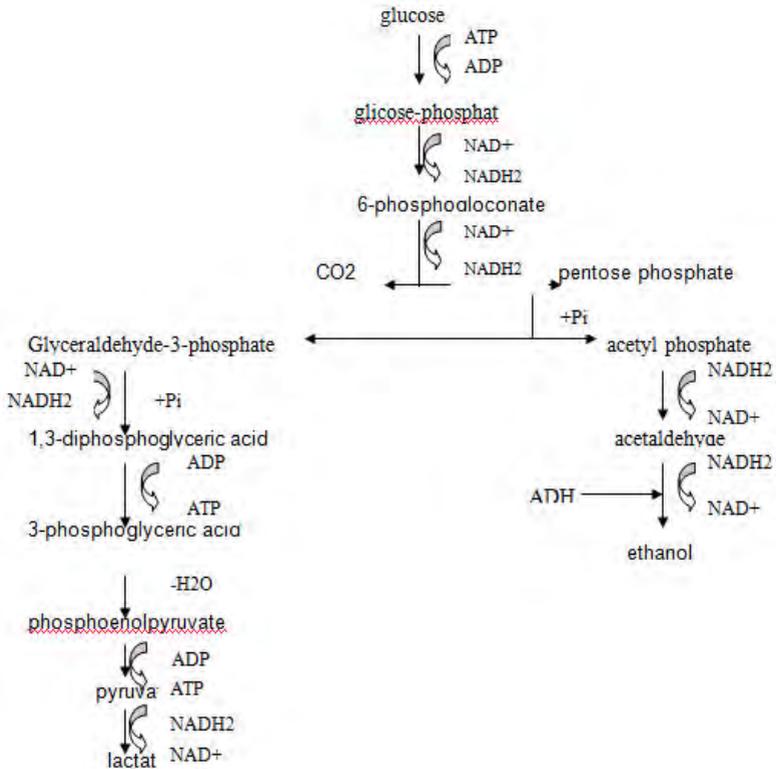
Gambar IV.3. Kurva Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Pada kurva pertumbuhan mikroorganisme, terlihat bahwa jumlah mikroorganisme mencapai konstan pada suatu waktu tertentu. Hal ini dikarenakan metode yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme adalah metode *counting chamber* dimana jumlah mikroorganisme yang ada dihitung dengan pengamatan melalui mikroskop. Jumlahnya tidak mengalami penurunan karena tidak dapat membedakan antara mikroorganisme yang hidup dan yang mati sehingga kurva yang dihasilkan menjadi seperti di atas.

IV.2 Perhitungan Total Asam Fermentasi Mocaf

Analisa ini akan dilakukan dengan menghitung kadar asam setara dengan asam laktat dengan metode titrasi. (Henshaw, E. E. and Ikpoh, I. S. 2009)

Dalam proses fermentasi mocaf, terjadi perubahan karbohidrat (glukosa) menjadi senyawa yang lebih sederhana salah satunya adalah asam laktat. Proses perubahan ini merupakan proses katabolisme yang dilakukan oleh mikroorganisme untuk mendapatkan energi. Bagan uraian proses dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar IV.4. Bagan alir reaksi pembentukan asam laktat (Madigan et al., 1997)

Proses di atas terjadi pada fermentasi pembuatan mocaf. Pembentukan asam laktat terjadi pada proses anaerobic. Titrasi dilakukan dengan mengambil 5 mL sample lalu meneteskan

indicator PP dan menitrasi dengan 0,2 N NaOH, kemudian volume NaOH yang diperlukan untuk mencapai titik akhir titrasi digunakan untuk menghitung kadar total asam (wt/vol) dengan menggunakan persamaan:

$$\%Total\ Asam\ \left(\frac{g}{L}\right) = \frac{N \times V_1 \times E_{qwt}}{V_2}$$

Ket :

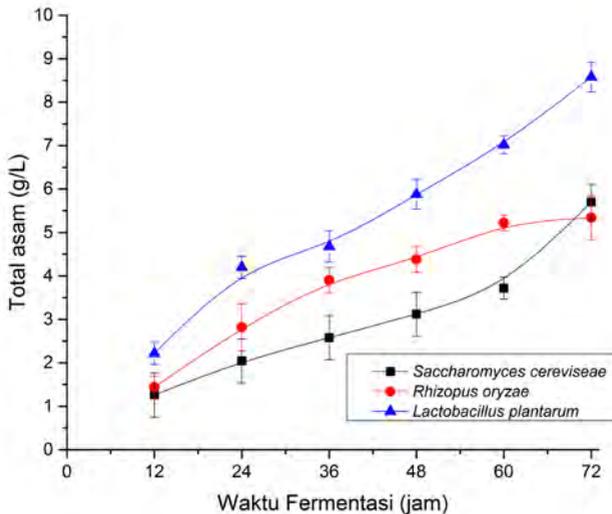
N = Normalitas titran (NaOH) (mol/L)

V₁ = Volume titran (NaOH) (L)

E_{qwt} = Berat equivalen asam (g/Eq)

V₂ = Volume sampel (L)

Sehingga didapatkan grafik untuk total asam pada fermentasi seperti gambar dibawah ini:



Gambar IV.5. Grafik % Total Asam Pada Larutan Hasil Fermentasi

Berdasarkan gambar grafik diatas dapat dilihat total asam naik seiring dengan lama fermentasi. Hasil yang didapat juga menunjukkan bahwa fermentasi dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* menghasilkan total asam yang lebih banyak dibandingkan dengan mikroorganisme yang lain. Jika dibandingkan dengan penelitian terdahulu, Hasil yang diberikan cukup mendekati dengan penelitian Joan, et al (2012) dimana proses sintesis asam laktat dengan menggunakan 3 media MRS medium, GM (Glukosa) dan HY1(singkong sebagai sumber karbon) dan menggunakan *Lactobacillus brevis*. Hasil yang didapat adalah sebagai berikut:

Hasil yang didapat menunjukan fermentasi selama 72 jam dengan menggunakan singkong sebagai nutrisi dalam sintesis asam laktat menghasilkan 13.6 g/L asam laktat, sedangkan hasil yang didapat pada fermentasi yang kita lakukan adalah sebesar 8,58 (g/L) untuk *Lactobacillus plantarum*, 5,34 (g/L) untuk fermentasi menggunakan *Rhizopus oryzae*, dan sebesar 5,7 (g/L) untuk fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. Hasil yang didapatkan terdapat perbedaan karena pada penelitian Joan, et al (2012), media untuk sintesis asam laktat (HY1) ditambahkan nutrient tertentu selain media singkong yaitu KH_2PO_4 5.6, K_2HPO_4 4.16, dan pH awal dikontrol 5.5 sehingga asam laktat yang dihasilkan pada penelitian ini menjadi lebih tinggi, selain itu bakteri yang digunakan berbeda, tetapi masih berada dalam satu genus.

Menurut Manfaati,2010 Asam laktat, merupakan asam *chiral* (asam asimetris) yang memiliki dua bentuk optikal isomer yaitu *D(-) lactic acid* dan *L(+) lactic acid*. *D(-) lactic acid* merupakan isomer yang berbahaya bagi metabolisme manusia dan dapat menyebabkan *acidosis* dan *decalsification*. Sedangkan *L(+) lactic acid* adalah isomer yang dipilih untuk makanan dan industri farmasi, karena tubuh manusia hanya menghasilkan enzim *L-lactate dehydrogenase*. Isomer *L(+) lactic acid* juga merupakan bahan baku pembuatan PLA. Asam laktat telah

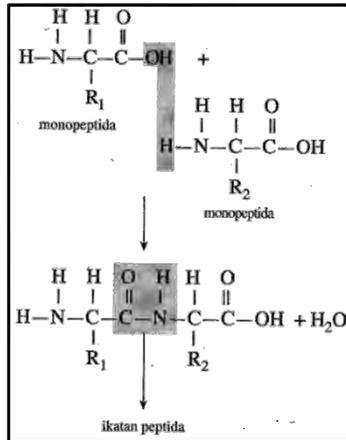
diproduksi secara komersial baik dengan proses sintesa kimia atau fermentasi bakterial. Gula dan tepung digunakan secara luas sebagai sumber karbon untuk media produksi asam laktat secara komersial. Berbagai bahan baku dari jenis tepung-tepungan seperti gandum, jagung, kentang, sorgum dan singkong telah banyak diteliti sebagai bahan baku sumber karbon yang potensial untuk produksi asam laktat.

IV.3 Analisa Kadar Protein

Protein adalah merupakan suatu senyawa yang disusun oleh asam-asam amino. Asam-asam amino ini satu sama lain terikat oleh ikatan peptida. Gugus amin dari satu asam bersatu dengan gugus karboksil dari asam amino lain dengan mengeluarkan satu molekul air. (Kastyanto, 1999).

Protein dapat mengalami degradasi yaitu pemecahan molekul kompleks menjadi molekul-molekul sederhana oleh pengaruh asam, basa atau enzim. Hasil degradasi protein dapat berupa bentuk protease, pepton, polipeptida asam amino, NH_3 dan unsur N. Di samping itu dapat juga dihasilkan komponen-komponen yang menimbulkan bau busuk, misalnya merkaptan, skatol, purisin dan H_2S .

Molekul protein sendiri merupakan rantai panjang yang tersusun oleh mata rantai asam-asam amino. Asam-asam amino adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus karboksi ($-\text{COOH}$) dan satu atau lebih gugus amino ($-\text{NH}_2$) yang salah satunya terletak pada atom C tepat disebelah gugus karboksil (atom C alfa). Asam-asam amino yang berbeda-beda (ada 20 jenis asam amino dalam protein alamiah) bersambung melalui ikatan peptida yaitu ikatan antara gugus karboksil satu asam amino dengan gugus amino dari asam amino di sampingnya.

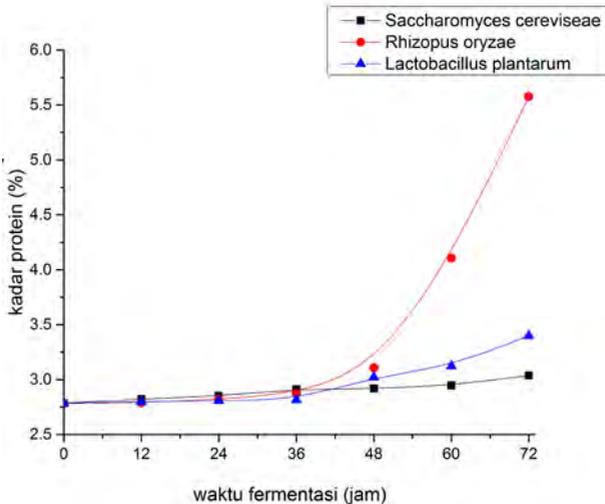


Gambar IV.6. Struktur protein

Dalam keadaan asli di alam, protein merupakan senyawa bermolekul besar dan kompleks yang tersusun dari unsur C, H, O, N, S dan dalam keadaan kompleks ada dalam keadaan kompleks ada unsur P.

Peneraan jumlah protein dalam bahan makanan umumnya dilakukan berdasarkan peneraan empiris (tidak langsung), yaitu melalui penentuan kandungan N yang ada dalam bahan. Penentuan dengan cara langsung atau absolut, misalnya dengan pemisahan, pemurnian atau penimbangan protein akan memberikan hasil yang lebih tepat tetapi sangat sukar dilakukan. Peneraan jumlah protein secara empiris yang umum dilakukan adalah dengan menentukan jumlah nitrogen (N) yang dikandung oleh suatu bahan. Cara penentuan ini dikembangkan jumlah nitrogen (N) yang dikandung oleh suatu bahan. Cara penentuan ini dikembangkan oleh Kjeldahl, seorang ahli kimia Denmark pada tahun 1883. Dalam penentuan protein, seharusnya hanya nitrogen yang berasal dari protein saja yang ditentukan. Akan tetapi secara teknis hal ini sulit sekali dilakukan dan mengingat jumlah kandungan senyawa lain selain protein dalam bahan biasanya sangat sedikit, maka penentuan jumlah N total ini tetap

dilakukan untuk mewakili jumlah protein yang ada. Kadar protein yang ditentukan berdasarkan cara Kjeldahl ini dengan demikian sering disebut sebagai kadar protein kasar (crude protein).



Gambar IV.7. Grafik Kadar Protein Pada *Mocaf*

Dari gambar IV.7 diatas dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan kadar protein pada fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oryzae*, dan *Lactobacillus plantarum*. Semakin lama waktu fermentasi, maka kadar protein semakin tinggi. Hal ini terlihat pada grafik bahwa kadar protein tertinggi adalah ketika fermentasi 72 jam. Pada fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* maupun *Rhizopus oryzae*, kenaikan protein ini disebabkan oleh kemampuan dari kedua mikroorganisme ini untuk mensekresikan beberapa enzim ekstraseluler (protein) ke dalam singkong selama proses fermentasi, atau berkembangnya *Saccharomyces cerevisiae* maupun *Rhizopus oryzae* ke dalam singkong dalam bentuk protein sel tunggal (Akindahunsi et al, 1999.; Okafor, 1998). Kadar protein pada tepung singkong tanpa fermentasi adalah

2,78%. Kadar protein yang didapatkan pada mocaf hasil fermentasi semakin meningkat hingga pada fermentasi selama 72 jam dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* maupun *Rhizopus oryzae* kadar protein meningkat menjadi 3,04% dan 5,57%.

Untuk fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum*, kenaikan kadar protein disebabkan karena selama fermentasi bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* menghasilkan enzim proteinase. Adanya kenaikan kadar protein diperoleh dari aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh mikroba yang ada dalam proses fermentasi. Lamanya waktu fermentasi membuat populasi *Lactobacillus plantarum* semakin meningkat, sehingga membuat kadar protein terlarut juga meningkat. Kadar protein yang didapatkan pada mocaf hasil fermentasi menggunakan *Lactobacillus* juga mengalami peningkatan, hingga pada fermentasi selama 72 jam kadar protein menjadi 3,39%.

Secara umum, peningkatan jumlah protein ini disebabkan oleh adanya pertambahan jumlah mikroorganisme yang berperan sebagai *Single cell protein* (SCP), yaitu protein yang didapat dari mikroorganisme (Vincent, 1969; Becker and Venktaraman, 1982). Berdasarkan penelitian Adedayo et al (2011) bermacam macam mikroorganisme dapat digunakan untuk memproduksi SCP. Tujuan dari produksi SCP ini adalah untuk menyediakan sumber bahan pangan tambahan. Banyak bahan yang dapat digunakan sebagai bahan baku produksi SCP (Nasseri, 2011). Proses produksi SCP ini bisa melalui 2 tipe fermentasi, yaitu *submerged fermentation* dan *semi-solid state fermentation* (Varavinit et al., 1996).

Untuk memperhitungkan nilai nutrisinya, faktor-faktor seperti komposisi nutrisi, asam amino, vitamin dan asam nukleat, alergi dan efek gastrointestinal perlu menjadi pertimbangan (Lichtfield, 1968). Disisi lain, konsentrasi asam nukleat yang tinggi dalam SCP dapat meningkatkan *uric acid*. Produksi *uric acid* dalam konsentrasi tinggi dalam darah ini menyebabkan gangguan kesehatan seperti batu ginjal (Nasseri et al., 2011).

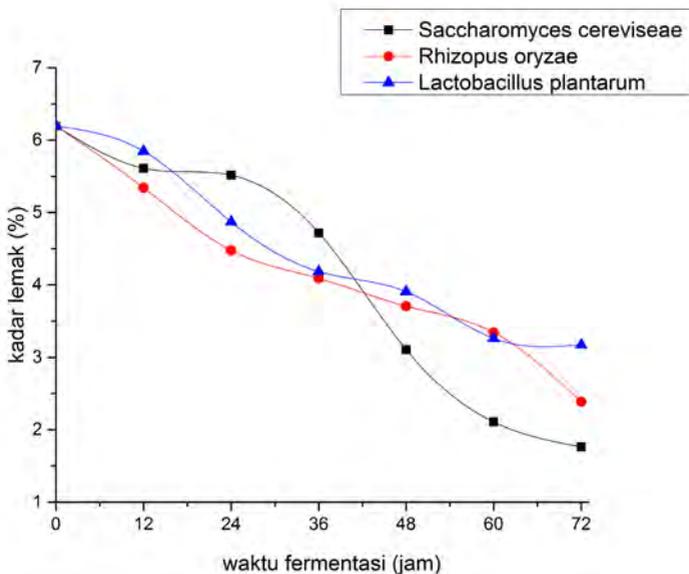
Selain itu, pada beberapa spesies jamur dapat memproduksi mikotoksin, yaitu racun yang dihasilkan oleh jamur yang bisa mengakibatkan penyakit, bahkan kematian pada manusia atau hewan (Bennet dan Klich, 2003).

IV.4 Analisa Kadar Lemak

Fermentasi menyebabkan penurunan kandungan lemak pada mocaf. Terjadinya penurunan kadar lemak dengan semakin lamanya fermentasi disebabkan oleh mikroorganismenya yang dipakai dalam proses fermentasi bersifat lipolitik yang dapat menghidrolisis lemak dan menggunakan lemak dari substrat sebagai sumber energinya (Smith dan Alford, 1968).

Kadar lemak berkurang selama proses fermentasi juga karena akibat aktivitas enzim lipase, yang bergantung pada lamanya waktu fermentasi. Lemak dapat dipecah oleh enzim lipase menjadi asam-asam lemak bebas dan gliserol (Jennie dan Muchtadi, 1978).

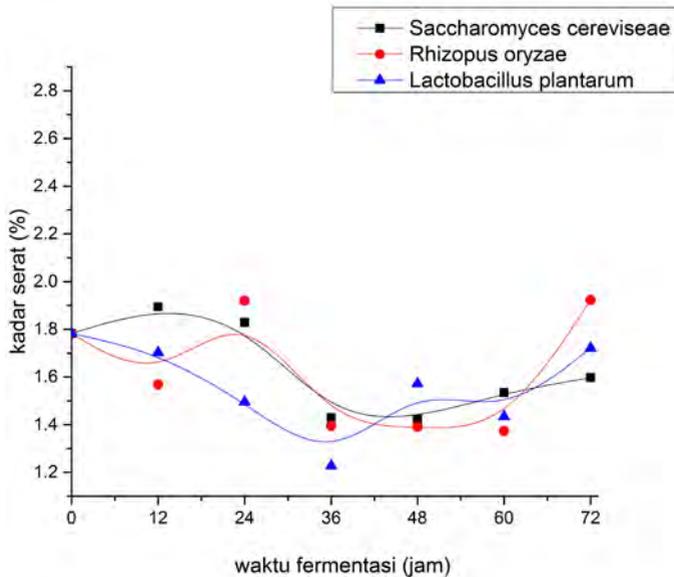
Kadar lemak sebelum proses fermentasi, yaitu 6,19%. Selama fermentasi terjadi penurunan kadar lemak. Dari hasil penelitian didapatkan pada variabel waktu fermentasi 0, 36, dan 72 jam, kadar lemak mengalami penurunan untuk *Saccharomyces cerevisiae* (6,19%; 5,60%; 5,51%; 4,72%; 3,10%; 2,10%; dan 1,76%), *Rhizopus oryzae* (6,19%; 5,34%; 4,47%; 4,08%; 3,70%; 3,34%; dan 2,38%), dan *Lactobacillus plantarum* (6,19%; 5,84%; 4,87%; 4,18%; 3,90%; 3,26%; dan 3,17%).



Gambar IV.8. Grafik Kadar Lemak Pada *Mocaf*

IV.5 Analisa Kadar Serat

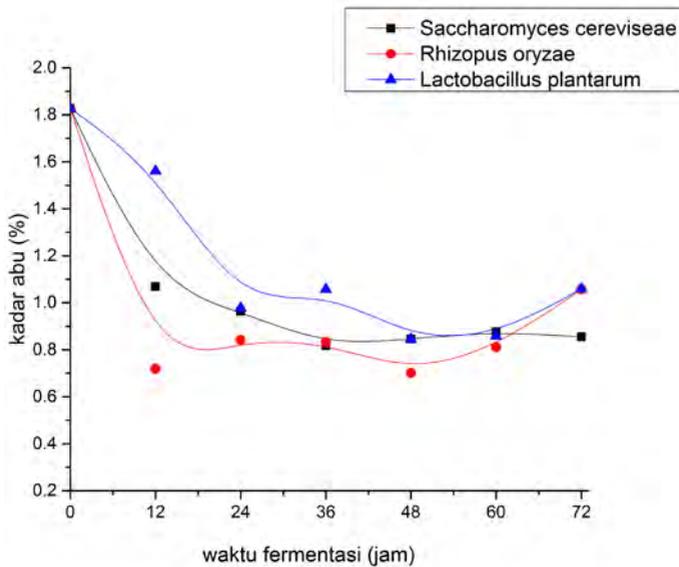
Dari hasil percobaan yang dilakukan dapat dilihat untuk kadar serat selama proses fermentasi tidak berubah secara signifikan atau cenderung konstan. Kadar serat tidak berubah secara signifikan karena mikroba hanya menggunakan serat sebagai komposisi nutrisi dalam pertumbuhannya. Terjadi sedikit penurunan serat bisa juga diakibatkan oleh tercernanya bagian dari serat oleh mikroba yang biasanya sulit dicerna oleh ternak monogastrik (Satiyawiharja, 1984).



Gambar IV.9. Grafik Kadar Serat Pada *Mocaf*

IV.6 Analisa Kadar Abu

Dari hasil percobaan yang telah dilakukan dapat dilihat bahwa kadar abu singkong lebih tinggi dari pada kadar abu pada *mocaf*. Hal ini dapat dilihat dari warna tepung yang dihasilkan. Semakin tinggi kadar abu maka warna dari tepung akan semakin kuning atau cenderung kusam. Dengan berkurangnya kadar abu maka *mocaf* mempunyai warna yang lebih putih. Mikroorganismenya memiliki kemampuan dalam perubahan warna produk fermentasi (Salim, 2011 ; Kusmiati 2002).

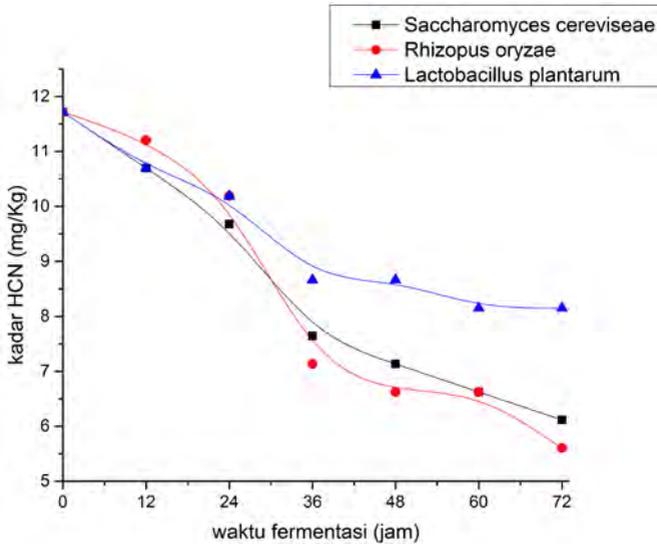


Gambar IV.10. Grafik Kadar Abu Pada *Mocaf*

Dari hasil penelitian didapatkan pada variabel waktu fermentasi kadar abu mengalami penurunan.

IV.7 Analisa Kadar HCN

HCN merupakan senyawa beracun bagi tubuh manusia. Berdasarkan hasil yang didapat pada gambar IV.9 dapat dilihat bahwa ada kecenderungan penurunan kadar HCN pada tepung mocaf selama proses fermentasi berlangsung. Kadar HCN terendah diperoleh pada hasil fermentasi dengan menggunakan *Rhizopus oryzae* dengan lama fermentasi selama 72 jam yaitu sebesar 5,6 mg/kg. Sedangkan pada mikroorganismenya yang lain yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus plantarum* didapatkan kadar HCN sebesar 6,1 mg/kg dan 8,15 mg/kg.



Gambar IV.11. Grafik Kadar HCN (Asam Sianida) *Mocaf*

Penurunan yang terjadi disebabkan karena mikroorganismenya mampu memecah sianogenik dan glikosida dan produk turunannya. Selain itu produk olahan singkong yang melibatkan proses perendaman dan pencucian dengan air panas, proses fermentasi dan proses pengeringan dapat menurunkan kadar HCN pada singkong (Akindahunsi *et al.*, 1999)

Proses perendaman dan pencucian dengan air panas dapat menghilangkan HCN, sebab HCN mudah larut dalam air dan mempunyai titik didih 29°C. Hasil Uji statistik menunjukkan bahwa metode ini secara nyata dapat menurunkan kadar HCN dan semakin lama proses perendaman maka makin tinggi presentase penurunan kadar HCN. Disamping itu juga, cara perendaman dapat melarutkan senyawa linamarin dan lotaustralin, serta memacu pertumbuhan mikroorganismenya yang dapat menguraikan racun menjadi asam organik. Metode fermentasi singkong

bertujuan untuk inaktivasi enzim linamarase sehingga tidak bisa mengkatalisis pembentukan HCN (Adamfio *et al.*, 2010).

Berdasarkan pada hasil analisa untuk anti nutrisi dan protein, dapat dilihat bahwa tepung singkong yang belum terfermentasi sudah aman untuk dikonsumsi. Akan tetapi berdasarkan hasil protein yang didapat, hasil terbaik menunjukkan bahwa pada jam ke-72 protein tertinggi dihasilkan dari fermentasi mocaf dengan menggunakan *Rhizopus oryzae* sebesar 5,57%. Untuk kadar HCN didapatkan yang terbaik juga untuk *Rhizopus oryzae* dengan kandungan HCN paling kecil yaitu 5,6 mg/kg. Maka dapat disimpulkan bahwa fermentasi menggunakan *Rhizopus oryzae* selama 72 jam memberikan hasil yang terbaik karena memiliki kandungan zat nutrisi protein yang paling tinggi dan memiliki kandungan zat anti nutrisi HCN paling rendah bila dibandingkan dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus plantarum*. Berikut perbandingan nutrisi antar keduanya apabila dibandingkan dengan tepung standart nasional Indonesia (SNI):

Tabel IV.1. Perbandingan Nutrisi Tepung Mocaf dengan Tepung terigu

Komposisi	Kadar per 100 gram tepung singkong terfermentasi				Standart *
	Control	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>	
Protein kasar	2,78	3,03	3,40	5,58	Min. 7%
Abu	1,83	0,85	1,06	1,06	Maks. 1,5%
Lemak kasar	6,19	1,76	3,17	2,39	-
Serat Kasar	1,78	1,60	1,72	1,92	4%
HCN	11,7	6,1	8,15	5,6	Max 40 **

* SNI 01 – 3751 – 2006 ** Aida & Kurniati 2012

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB V

KESIMPULAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan :

1. Kadar protein selama proses fermentasi semakin meningkat seiring lama waktu fermentasi. Kadar protein mengalami kenaikan setiap variabel waktu, untuk *Saccharomyces cerevisiae* (2,78%; 2,82%; 2,85%; 2,91%; 2,92%; 2,94%; dan 3,03%), *Rhizopus oryzae* (2,78%; 2,79%; 2,82%; 2,87%; 3,10%; 4,10%; dan 5,57%), dan *Lactobacillus plantarum* (2,78%; 2,79%; 2,80%; 2,81%; 3,02%; 3,12%; dan 3,39%).
2. Kadar lemak selama proses fermentasi mengalami penurunan seiring lama waktu fermentasi. Perubahan kadar lemak pada setiap variabel adalah *Saccharomyces cerevisiae* (6,19%; 5,60%; 5,51%; 4,72%; 3,10%; 2,10%; dan 1,76%), *Rhizopus oryzae* (6,19%; 5,34%; 4,47%; 4,08%; 3,70%; 3,34%; dan 2,38%), dan *Lactobacillus plantarum* (6,19%; 5,84%; 4,87%; 4,18%; 3,90%; 3,26%; dan 3,17%).
3. Kadar serat selama proses fermentasi cenderung konstan terhadap lama waktu fermentasi. Perubahan kadar lemak pada setiap variabel adalah *Saccharomyces cerevisiae* (1,78%; 1,89%; 1,82%; 1,43%; 1,42%; 1,53%; dan 1,59%), *Rhizopus oryzae* (1,78%; 1,56%; 1,92%; 1,39%; 1,39%; 1,37%; dan 1,92%), dan *Lactobacillus plantarum* (1,78%; 1,70%; 1,49%; 1,22%; 1,57%; 1,43%; dan 1,72%), kadar serat yang dihasilkan sudah sesuai dengan standar tepung terigu.
4. Kadar abu selama proses fermentasi mengalami penurunan seiring lama waktu fermentasi. Perubahan kadar lemak pada setiap variabel adalah, kadar abu mengalami penurunan untuk *Saccharomyces cerevisiae* (1,82%; 1,06%; 0,96%; 0,81%; 0,84%; 0,87%; dan

- 0,85%), *Rhizopus oryzae* (1,82%; 0,71%; 0,84%; 0,83%; 0,70%; 0,81%; dan 1,05%), dan *Lactobacillus plantarum* (1,82%; 1,56%; 0,97%; 1,05%; 0,84%; 0,85%; dan 1,05%).
5. Kadar HCN mengalami penurunan selama proses fermentasi. Kadar HCN terendah diperoleh pada hasil fermentasi dengan menggunakan *Rhizopus oryzae* dengan lama fermentasi selama 72 jam yaitu sebesar 5,6 mg/kg. Sedangkan pada mikroorganisme yang lain yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus plantarum* didapatkan kadar HCN sebesar 6,1 mg/kg dan 8,15 mg/kg.
 6. Jumlah total asam yang didapat pada fermentasi selama 72 jam sebesar 8,58 (g/L) untuk *Lactobacillus plantarum*, 5,34 (g/L) untuk fermentasi menggunakan *Rhizopus oryzae*, dan sebesar 5,7 (g/L) untuk fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*.
 7. Hasil yang terbaik didapatkan dengan fermentasi menggunakan *Rhizopus oryzae* selama 72 jam karena memiliki kandungan zat nutrisi protein yang paling tinggi dan memiliki kandungan zat anti nutrisi HCN paling rendah bila dibandingkan dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus plantarum*

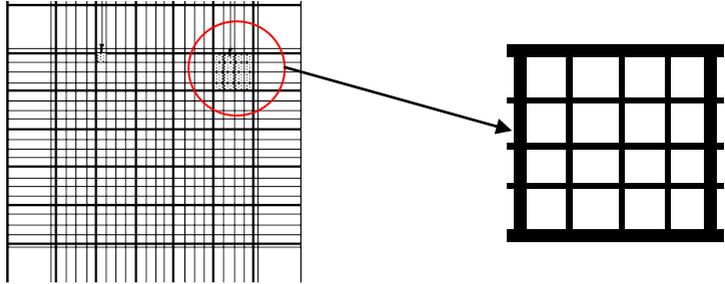
V.2 Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya, proses fermentasi dilakukan pada dilakukan pada reaktor yang lebih baik.
2. Untuk analisa total asam dapat dikembangkan ke penelitian yang lebih detail contohnya analisa asam laktat.

APPENDIKS

A.1 Perhitungan Kurva Kalibrasi Pertumbuhan Mikroorganisme

- Metode *Counting chamber*



Gambar.1 Ruang Hitung *Haemacytometer*

Analisa jumlah bakteri dihitung dengan menggunakan Haemacytometer.

Dengan pembesaran 400x :

Lensa obyektif 40X,

Lensa okuler 10X.

Mikroorganisme yang terlihat pada masing-masing kotak yang ditandai, dihitung dan dilakukan pengambilang data sebanyak 3 kali. Berikut contoh data yang diambil untuk sampel pada jam ke 12 pada fermentasi dengan menggunakan *Saccharomyces cereviseae* :

Sample ke-	Run	A	B	C	D	E	Jumlah
12 jam	1	2	0	2	2	1	7
	2	0	2	4	0	1	7
	3	2	2	0	0	2	6

$$\begin{aligned} \text{Jumlah bakteri} & \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \\ &= \frac{\text{Jumlah bakteri}}{5 \text{ Kotak}} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{0,1 \text{ mm}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah bakteri} & \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} = \frac{7}{5 \text{ Kotak}} \times \frac{25 \text{ kotak}}{1 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{0,1 \text{ mm}} \\ &= 3500 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \end{aligned}$$

Pada perhitungan sel dilakukan dengan dilakukan pengenceran 1.000x

Sehingga,

$$\text{Jumlah bakteri} \frac{\text{sel}}{\text{sampel mm}^3} = 3500 \times 1.000 \frac{\text{sel}}{\text{sampel mm}^3}$$

Dilakukan perhitungan untuk masing-masing run sehingga didapatkan rata-rata pada jam ke 12 sebagai berikut :

Run	Sel/sampel mm ³
1	3500000
2	3500000
3	3000000

Didapatkan rata-rata :

$$\text{Jumlah} \times 10^{-3} \frac{\text{sel}}{\text{ml sampel}} = 3.333.333$$

Dilakukan perhitungan yang sama pada masing-masing sampel waktu dan mikroorganisme. Sehingga didapatkan:

Tabel 1. Jumlah Mikroorganisme *Rhizopus oryzae*

waktu fermentasi	Jumlah Mikroorganisme (x10 ⁶)
0	2.166666667
12	4.5
24	5.666666667
36	9.666666667
48	10.5
60	10.5
72	10.66666667

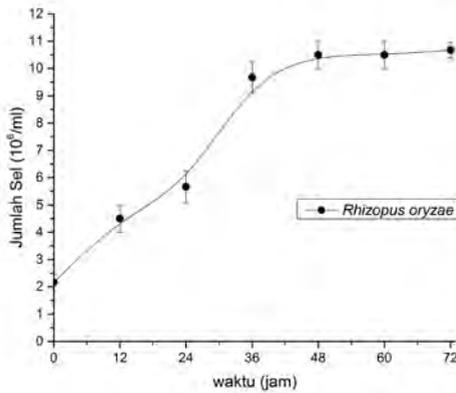
Tabel 2. Jumlah Mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae*

waktu fermentasi	Jumlah Mikroorganisme (x10 ⁶)
0	1.666666667
12	3.333333333
24	5.833333333
36	9.5
48	10.83333333
60	10.83333333
72	10.83333333

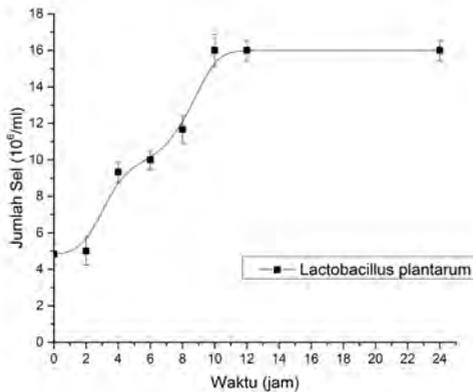
Tabel 3. Jumlah Mikroorganisme *Lactobacillus plantarum*

waktu fermentasi	Jumlah Mikroorganisme (x 10 ⁶)
0	4.833333333
2	5
4	9.333333333
6	10
8	11.5
10	16
12	16
24	16

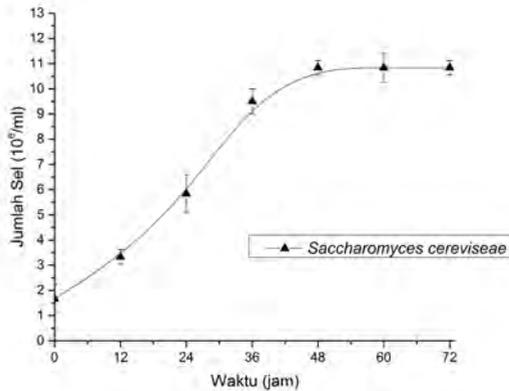
Kemudian dilakukan plot grafik untuk waktu fermentasi terhadap jumlah sel yang yang didapat, berikut grafik untuk pertumbuhan mikroorganisme *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus plantarum*:



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Rhizopus oryzae*



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*



Gambar 3. Kurva pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

A.2 Perhitungan Total Asam

Pada perhitungan total asam ini dilakukan dengan metode titrasi dengan menggunakan indikator PP (fenoftalein) dan kemudian dilakukan titrasi dengan 0,2 N. Berikut rumus yang digunakan untuk menghitung total asam :

$$\% \text{ acid } \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{N \times V_1 \times E_{qwt}}{V_2}$$

Ket :

N = Normalitas titran (NaOH)

V_1 = Volume titran (NaOH) (L)

E_{qwt} = Berat equivalen asam = BM /
equivalen asam laktat (g/mol.Eq)

V_2 = Volume sampel (L)

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, berikut salah satu contoh perhitungan sampel total asam pada jam ke 12 :

- Volume sampel = 5 ml
- Normalitas NaOH = 0,2 N

Jam Ke 12	Volume NaOH (ml)
Run 1	0,9
Run 2	0,7
Run 3	0,4

$$E_{qwt} = \frac{BM}{\text{equivalen asam laktat}} = \frac{90 \text{ mg/mmol}}{1 \text{ mEq}}$$

Untuk Run 1 ,

$$\% \text{ acid } \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{0,2 \times 0,0009 \times 90}{0,005} = 0,324 \frac{g}{L}$$

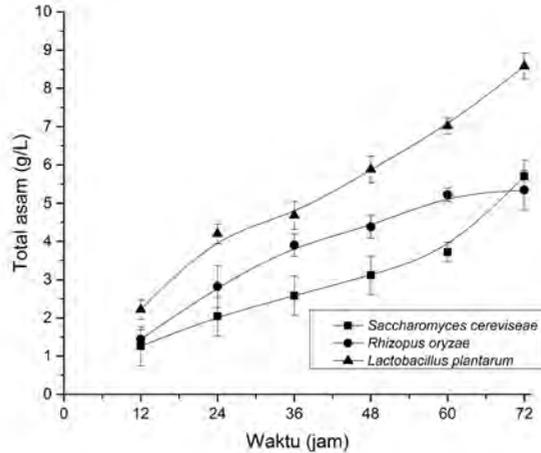
Untuk Run 2,

$$\% \text{ acid } \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{0,2 \times 0,0007 \times 90}{0,005} = 0,252 \frac{g}{L}$$

Untuk Run 3,

$$\% \text{ acid } \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{0,2 \times 0,0004 \times 90}{0,005} = 0,144 \frac{g}{L}$$

Kemudian dirata-rata, sehingga didapatkan persen total asam
Berikut grafik hasil perhitungan dari masing-masing sampel
untuk analisa persen total asam :



Gambar 4. Grafik pengaruh total asam terhadap lama waktu fermentasi

A.4 Perhitungan Lemak Kasar

$$\% \text{ Kadar Lemak} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W 1 = Berat sampel (gram)

W2 = Berat labu lemak tanpa lemak (gram)

W3 = Berat labu lemak dengan lemak (gram)

Berikut data penelitian yang didapat :

	W1	W2	W3
Run 1	5,3205	54,9211	55,102
Run 2	5,3204	54,9213	55,1018
Run 3	5,3206	54,9214	55,1017
Rata-rata	5,3205	54,92127	55,10183

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar Lemak} &= \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100\% \\ &= \frac{55,10183 - 54,92127}{5,3205} \times 100\% = 3,3938 \% \end{aligned}$$

Dilakukan hal yang sama untuk semua sampel

A.5 Perhitungan Abu

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat cawan abu porselen kosong (gram)

B = Berat cawan abu porselen dengan sampel sebelum dikeringkan (gram)

C = Berat cawan abu porselen dengan sampel setelah dikeringkan (gram)

Berikut data penelitian yang didapat :

	A	B	C
Run 1	38,3473	40,6945	38,3551
Run 2	38,3465	40,6943	38,3545
Run 3	38,347	40,6941	38,3541
Rata-rata	38,3469	40,6943	38,3546

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar abu} &= \frac{C - A}{B - A} \times 100\% \\ &= \frac{38,3546 - 38,3469}{40,6943 - 38,3469} \times 100\% = 0,3252\% \end{aligned}$$

Dilakukan hal yang sama untuk semua sampel

A.6 Perhitungan HCN

Berat HCN dihitung menggunakan persamaan

$$= \frac{\text{ml titer (blangko - sampel)}}{\text{ml titer blanko}} \times \frac{20 \times N \text{ AgNO}_3}{\text{kg sampel}} \times 0,54 \text{ mg}$$

Berat HCN dapat dihitung dari titrasi, diambil data pada pengukuran fermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* selama 36 jam

Titration Blanko = 5,3 ml

Titration sample = 3,8 ml

Berat sample yang diambil sebesar 20 g = 0.02 kg

Maka:

$$\begin{aligned}\text{berat HCN} &= \frac{5,3 - 3,8}{5,3} \times \frac{20 \times 0,02}{0,02 \text{ kg}} \times 0,54 \text{ mg} \\ &= 7,64 \text{ mg/kg}\end{aligned}$$

Perhitungan yang sama digunakan untuk mencari kadar HCN pada variabel yang berbeda.

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Doniarta Kurniawan Mintoko adalah putra kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Wahyu Mintoko dan Aprilia Jiniati. Penulis dilahirkan di Banyuwangi yang terletak di Provinsi Jawa Timur, pada tanggal 10 Oktober 1992. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SDK St. Petrus Jajag, SMPK St. Aloysius Jajag, dan SMAK St. Paulus Jember. Selanjutnya penulis melanjutkan ke jenjang perkuliahan di

Program Studi S-1 Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Penulis memilih Laboratorium Penelitian Teknologi Biokimia dan kemudian melakukan penelitian yang berjudul :

“PENGARUH FERMENTASI PADA PEMBUATAN MOCAF DENGAN MENGGUNAKAN RAGI ROTI *Saccharomyces cerevisiae*), RAGI TEMPE (*Rhizopus oryzae*), DAN *Lactobacillus plantarum* TERHADAP KANDUNGAN ZAT NUTRISI DAN ANTI-NUTRISI”

Email Penulis : doniarta147@gmail.com

No. HP : 087857203599

Motto : *Never give up easily.*

Pesan : Hidupmu sangat berharga jangan disia-siakan.

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Jeffrey Tandrianto adalah putra pertama dari dua bersaudara dari pasangan Djoko Siantoro dan Anitawati. Penulis dilahirkan di Jember yang terletak di Provinsi Jawa Timur, pada tanggal 20 Mei 1992. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SDK Yos Sudarso Balung,, SMPK Maria Fatima Jember, dan SMAK St. Paulus Jember. Selanjutnya penulis melanjutkan ke jenjang perkuliahan di Program Studi

S-1 Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Penulis memilih Laboratorium Penelitian Teknologi Biokimia dan kemudian melakukan penelitian yang berjudul :

“PENGARUH FERMENTASI PADA PEMBUATAN MOCAF DENGAN MENGGUNAKAN RAGI ROTI *Saccharomyces cereviseae*, RAGI TEMPE (*Rhizopus oryzae*), DAN *Lactobacillus plantarum* TERHADAP KANDUNGAN ZAT NUTRISI DAN ANTI-NUTRISI”

Email Penulis : jeffry.tan2005@gmail.com

No. HP : 085859380777

Motto : *Do the best now or never*

Pesan : Berusahalah dan bersabarlah.