

**LAPORAN TAHUNAN
PENELITIAN HIBAH BERSAING**



**Pengembangan Inokulum Kultur Campuran Mikroorganisme
Lokal dari “Wikau Maombo” untuk Pengayaan Nutrisi Umbi
Ubi Kayu Melalui Teknik Fermentasi Substrat Padat**

Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

**Dr. Nurhayani H. Muhiddin, M.Si./NIDN : 0031126716
Dra. Asmawati Munir, M.Si. /NIDN : 0016046405**

**Surat Kontrak Perjanjian Pelaksanaan Penelitian
Nomor : 063-3/PPK/UHO/UHO/IV/2014, Tanggal 1 April 2014**

UNIVERSITAS HALU OLEO

NOVEMBER 2014

HALAMAN PENGESAHAN

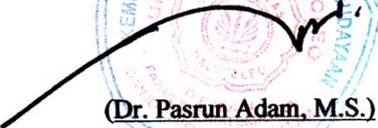
Judul Kegiatan : Pengembangan Inokulum Kultur Campuran Mikroorganisme Lokal dari “Wikau Maombo” untuk Pengayaan Nutrisi Ubi Ubi Kayu Melalui Teknik Fermentasi Substrat Padat

Peneliti/ Pelaksana
Nama Lengkap : Dr NURHAYANI H MUHIDIN M.Si.
NIDN : 0031126716
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Biologi
Nomor HP : 085242166184
Surel (e-mail) : nurhayani08@gmail.com

Anggota Peneliti (1)
Nama Lengkap : Dra ASMAWATI MUNIR M.Si.
NIDN : 0016046405
Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS HALU OLEO

Institusi Mitra (Jika ada)
Nama Institusi Mitra :
Alamat :
Penanggung Jawab :
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 30.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 115.000.000,00

Mengetahui,
Dekan FMIPA UHO


(Dr. Pasrun Adam, M.S.)
NIP/NIK. 195112311982111001

Kendari, 13- 11 - 2014
Ketua Peneliti,


(Dr. NURHAYANI H MUHIDIN M.Si)
NIP/NIK196712311993032004

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian UHO


(Prof. Dr. Ir. La Ode Muh. Aslan, M.Sc.)
NIP/NIK. 196612101991031005

RINGKASAN

Salah satu makanan khas Provinsi Sulawesi Tenggara berbasis ubi kayu terfermentasi adalah “Wikau Maombo”. Penelitian yang pernah dilakukan pada “Wikau Maombo” menunjukkan bahwa mikroorganisme yang terlibat selama proses fermentasi terdiri dari kelompok bakteri, kapang, dan khamir (Hasirun, 2005; Indradewi, dkk, 2007; Nurhayani, 2010). Hasil penelitian pengembangan teknologi fermentasi “Wikau Maombo” dengan inokulum kultur murni mikroorganisme tunggal menunjukkan bahwa rata-rata kadar HCN produk “Wikau Maombo” hasil fermentasi isolat bakteri, kapang dan khamir cenderung mengalami penurunan dibandingkan dengan “Wikau Maombo” hasil fermentasi tradisional, namun kadar protein tidak berbeda nyata (Nurhayani, 2010). Oleh karena itu, masalah penelitian adalah bagaimana mendapatkan formula inokulum dari kultur campuran mikroorganisme lokal yang optimal meningkatkan kandungan nutrisi umbi ubi kayu.

Penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian lanjutan dengan tujuan jangka panjang adalah menghasilkan produk berupa inokulum campuran kultur mikroorganisme lokal yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat dan industri untuk fermentasi umbi ubi kayu mentah dalam rangka melestarikan dan meningkatkan ketahanan pangan daerah. Penelitian **Tahun I** difokuskan pada skrining isolat-isolat mikroorganisme khusus kelompok kapang *Rhizopus* dan bakteri asam laktat (BAL) dari hasil penelitian terdahulu (Hasirun, 2005; Indradewi, dkk, 2007; Nurhayani, 2010) yang memiliki kemampuan amilolitik. Mikroorganisme yang mampu tumbuh pada media tinggi pati memiliki kemampuan amilolitik dan berpotensi dimanfaatkan untuk proses fermentasi dengan substrat umbi ubi kayu mentah. Kapang *Rhizopus* dan bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan amilolitik tertinggi dikembangkan dalam kultur campuran menjadi inokulum. Tujuan khusus penelitian adalah: 1) mendapatkan kultur murni kapang *Rhizopus* sp. dan bakteri asam laktat yang memiliki daya amilolitik tertinggi untuk dikembangkan menjadi inokulum campuran, 2) mengetahui pengaruh berbagai variasi konsentrasi kultur kapang dan bakteri dalam inokulum campuran terhadap kandungan protein, lemak dan HCN umbi ubi kayu setelah fermentasi, dan 3) mendapatkan formulasi optimal dari kultur campuran mikroorganisme yang menghasilkan produk fermentasi umbi ubi kayu dengan kandungan protein tertinggi. Penelitian bersifat eksploratif menggunakan metode eksperimental dengan teknik fermentasi substrat padat.

Hasil penelitian diperoleh 3 isolat kapang menunjukkan karakter kapang *Rhizopus* dan satu diantaranya yaitu isolat FT3.4 memperlihatkan aktivitas amilolitik tertinggi yang akan dikembangkan untuk formulasi inokulum campuran. Ada empat isolat bakteri asam laktat yang memperlihatkan aktivitas amilolitik dan terpilih isolat bakteri C untuk dikembangkan menjadi inokulum campuran. Kandungan protein umbi ubi kayu yang tertinggi dihasilkan pada perlakuan inokulum 100% kapang *Rhizopus* sp. yaitu 13,70 % dan perlakuan inokulum campuran 50 % *Rhizopus* sp. dan 50 % BAL yaitu 13,41%. Formulasi campuran inokulum mikroorganisme lokal yang terpilih untuk dikembangkan sebagai serbuk inokulum pada penelitian tahun kedua yaitu inokulum campuran mikroorganisme yang terdiri dari 50 % *Rhizopus* (isolat FT3.4) dan 50 % Bakteri asam laktat (BAL) (isolat C).

PRAKATA

Puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas berkah dan karuniaNya maka penelitian yang berjudul **Pengembangan Inokulum Kultur Campuran Mikroorganisme Lokal dari “Wikau Maombo” untuk Pengayaan Nutrisi Ubi Ubi Kayu Melalui Teknik Fermentasi Substrat Padat** dapat dilaksanakan. Penelitian ini dapat dilaksanakan atas bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terima kasih yang mendalam kepada :

1. Rektor Universitas Halu Oleo, Dekan FMIPA UHO dan ketua jurusan Biologi FMIPA yang telah memberikan kesempatan peneliti untuk melakukan penelitian.
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Halu Oleo beserta stafnya, atas penyaluran dana dari Ditlitabmas Ditjen DIKTI melalui hibah penelitian fundamental sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
3. Pimpinan dan staf Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA UHO yang berkenan memberikan ijin pemakaian dan fasilitas laboratorium serta bantuan selama penelitian.
4. Semua pihak yang belum disebutkan atas bantuan, dukungan dan kerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini.

Hasil penelitian ini merupakan upaya untuk menghasilkan produk berupa inokulum campuran kultur mikroorganisme lokal yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat dan industri untuk fermentasi umbi ubi kayu mentah. Penelitian Tahun I telah menghasilkan teknologi pembuatan formula inokulum dari kultur campuran mikroorganisme lokal yang unggul meningkatkan kandungan nutrisi umbi ubi kayu, serta artikel untuk publikasi. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat.

Kendari, November 2014

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	1
HALAMAN PENGESAHAN	2
RINGKASAN	3
PRAKATA	4
DAFTAR ISI	5
BAB I. PENDAHULUAN	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	9
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	13
BAB IV. METODE PENELITIAN	14
BAB V. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	17
BAB VI. RENCANA PENELITIAN TAHUN BERIKUTNYA	22
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	27

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Produksi ubi kayu Provinsi Sulawesi Tenggara tahun 2012 diperkirakan sebesar 254.412 ton umbi basah yang berarti mengalami peningkatan sebesar 89.562 ton (54,33 persen) dibandingkan dengan produksi tahun 2011 sebesar 164.850 ton umbi basah. Meningkatnya produksi ubi kayu tahun 2012 diperkirakan terjadi karena meningkatnya luas panen sebesar 4.137 hektar, dan di perkirakan produktivitas meningkat sekitar 11,20 kuintal/hektar (6,20 persen) (BPS Provinsi Sulawesi Tenggara, 2012).

Umbi ubi kayu termasuk hasil pertanian yang mudah rusak, karena memiliki kandungan air yang cukup tinggi, terlebih lagi kalau cacat saat dipanen. Umbi ubi kayu jenis pahit memiliki kadar air 57,71 %, protein 1,2280 %, lemak 0,4 %, serat kasar 8,388 %, glukosa 0,9175 % dan hidrogen sianida (HCN) yaitu 209,3877 mg/kg umbi (Indradewi dkk., 2007). Kandungan karbohidrat sebesar 36,8 gram dari 100 gram umbi umbi ubi kayu, dengan nilai kalori 154 kal merupakan yang terbaik diantara umbi-umbi yang lain (Gardjito, 2004). Tingginya kandungan pati pada umbi ubi kayu ini memungkinkan untuk pertumbuhan jenis mikroorganisme yang memiliki daya amilolitik. Pati ubi kayu dapat dihidrolisis dengan bantuan mikroorganisme yang menghasilkan enzim amilase. HCN akan dipecah menjadi metana dan amonia yang dapat digunakan sebagai sumber N bagi mikroorganisme, sehingga proses transaminasi dapat berlangsung dan akan dibentuk asam-asam amino baru.

Salah satu makanan khas Provinsi Sulawesi Tenggara berbasis ubi kayu terfermentasi adalah “Wikau Maombo”. “Wikau Maombo” merupakan makanan pokok sebagian besar masyarakat pedesaan terutama di kecamatan Mawasangka Kabupaten Buton. “Wikau Maombo” dibuat dari umbi ubi kayu pahit melalui fermentasi secara alami tanpa penambahan ragi. Proses fermentasi hanya melibatkan campuran mikroorganisme yang ada di lingkungan secara spontan dengan jumlah dan jenis yang tidak diketahui dan kondisi lingkungan tidak terkontrol. Dengan cara ini maka produk “Wikau Maombo” sering tidak stabil. Kualitas dan kandungan nutrisi tergantung kondisi lingkungan selama proses fermentasi dan penyimpanan.

Penelitian yang pernah dilakukan pada “Wikau Maombo” menunjukkan bahwa mikroorganisme yang terlibat selama proses fermentasi terdiri dari kelompok bakteri,

kapang, dan khamir (Hasirun, 2005; Indradewi, dkk, 2007; Nurhayani, 2010). Hasil fermentasi umbi ubi kayu menggunakan kultur tunggal mikroorganisme (Nurhayani, 2011) menunjukkan bahwa isolat dari kelompok kapang yang teridentifikasi sebagai spesies *Rhizopus oryzae* dapat menurunkan kadar HCN umbi ubi kayu pahit menjadi 16,4039 ppm dari kadar HCN 103,8352 ppm. Namun isolat ini menurunkan kadar protein menjadi 0,5923 % dari 0,6523 %. Salah satu bakteri yang teridentifikasi sebagai *Enterococcus casseliflavus*, termasuk ke dalam bakteri asam laktat (BAL), mampu menurunkan kadar HCN umbi ubi kayu menjadi 18,0875 ppm dari kadar HCN 103,8352 ppm dan meningkatkan protein dari 0,6523 % menjadi 0,8448 % .

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa fermentasi umbi ubi kayu dengan inokulum kultur murni mikroorganisme tunggal belum mampu meningkatkan kandungan protein secara signifikan. Isolat-isolat mikroorganisme yang digunakan sebagai inokulum belum diketahui daya amilolitiknya dan belum diuji kemampuannya memfermentasi umbi ubi kayu dalam kultur campuran. Industri fermentasi tradisional yang telah maju, mulai menggunakan kultur mikroorganisme hasil penelitian untuk menunjang penjaminan mutu produk. Oleh karena itu, penelitian yang akan dilakukan bertujuan untuk mengembangkan isolat dalam bentuk kultur campuran antara satu jenis kapang *Rhizopus* dan salah satu jenis bakteri Bakteri Asam Laktat (BAL) amilolitik. Sinergi antara kedua jenis mikroorganisme dalam memanfaatkan pati mentah, diharapkan dapat memperkaya kandungan nutrisi umbi ubi kayu.

Proses fermentasi menggunakan kapang *Rhizopus oryzae*, dapat menghilangkan kadar sianida (HCN) ubi kayu pahit sebesar 18 – 100 persen serta meningkatkan kadar protein antara 0,5 – 2 kali tergantung varietas singkong (Center for Research and Development of Nutrition and Food, NIHRD, 2003). Selanjutnya menurut Oboh dan Oladunmoye (2007), bahwa fermentasi substrat padat tepung umbi ubi kayu menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* secara signifikan meningkatkan kandungan protein dan lemak. Kulit umbi ubi kayu yang difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan 2 bakteri yaitu : *Lactobacillus delbruckii* dan *L. coryneformis* mengalami peningkatan protein menjadi 21,5 %, penurunan sianida menjadi 6,2 % dari 44,6 %, dan penurunan phytate menjadi 705,1 mg/100 g dari 1043,56 mg/100 g (Oboh, 2006).

Bakteri asam laktat dalam fermentasi makanan akan meningkatkan palatabilitas makanan dan meningkatkan mutu makanan oleh meningkatnya ketersediaan protein dan vitamin. Selain itu BAL juga memberikan efek bahan pengawet dan efek detoxifikasi pada makanan. Apabila digunakan secara teratur, makanan hasil fermentasi BAL meningkatkan sistem imunitas dan daya tahan tubuh terhadap infeksi bakteri pathogenic (Chelule, *et al.*, 2010). Fermentasi dengan BAL amilolitik akan menggabungkan dua proses yaitu hidrolisis enzimatis substrat karbohidrat (pati) sekaligus fermentasi yang memanfaatkan gula yang dihasilkan menjadi asam laktat (Reddy *et al.*, 2008).

Terkait dengan luasnya areal pertanaman ubi kayu di Provinsi Sulawesi Tenggara serta pemanfaatannya sebagai komoditi pangan yang potensial, maka fermentasi tradisional ubi kayu perlu dieksplorasi. Penelitian yang akan dilakukan berusaha untuk mengembangkan potensi mikroorganisme lokal yang telah diisolasi dari proses fermentasi tradisional “Wikau Maombo” dalam memperkaya kandungan nutrisi produk fermentasi umbi ubi kayu. Industri fermentasi tradisional yang telah maju, mulai menggunakan kultur mikroorganisme hasil penelitian untuk menunjang penjaminan mutu produk. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula inokulum dari kultur campuran mikroorganisme lokal yang unggul meningkatkan kandungan nutrisi dan memberi efek pengawet dan detoksifikasi pada umbi ubi kayu.

Mikroorganisme yang akan digunakan sebagai campuran inokulum adalah mikroorganisme yang memiliki kemampuan amilolitik tinggi, dengan harapan inokulum campuran dapat diaplikasikan pada fermentasi pati mentah umbi ubi kayu. Kapang dan bakteri amilolitik dapat mengubah pati atau amilum menjadi dekstrin kemudian maltosa dan glukosa. Glukosa dirombak menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat. Formulasi kultur campuran mikroorganisme lokal yang optimal dikembangkan menjadi inokulum bentuk serbuk siap pakai yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat dan industri. Dengan mengembangkan dan memanfaatkan pangan lokal diharapkan tercipta diversifikasi konsumsi yang pada gilirannya meningkatkan kualitas sumberdaya manusia serta meningkatnya ketahanan ekonomi dan ketahanan pangan daerah sekaligus mendukung ketahanan pangan nasional.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ubi Kayu (*Manihot* sp.)

Produksi ubi kayu Provinsi Sulawesi Tenggara tahun 2012 diperkirakan sebesar 254.412 ton umbi basah (BPS Provinsi Sulawesi Tenggara, 2012). Ubi kayu yang dibudidayakan oleh masyarakat ada dua jenis, yaitu jenis manis (*Manihot utilissima* Phol) dan jenis pahit atau jenis beracun (*Manihot aipi* Phol). Umbi ubi kayu dikategorikan beracun apabila kandungan HCN-nya melebihi 50 mg per kg umbi segar yang diparut. Ubi kayu jenis pahit merupakan ubi kayu yang berumur panjang, menghasilkan umbi yang banyak dan kandungan patinya tinggi (Anonim, 2008).

Umbi ubi kayu sangat kaya pati dan mengandung kalsium yang cukup (50 mg/100g), fosfor (40 mg/100g) dan vitamin C (25 mg/100g). Kadar amilum yang tinggi pada ubi kayu memungkinkan ubi kayu digunakan sebagai sumber karbohidrat. Kandungan karbohidrat sebesar 36,8 gram dari 100 gram umbi ubi kayu, dengan nilai kalori 154 kal merupakan yang terbaik diantara umbi-umbi yang lain. Kadar amilosa pada ubi kayu adalah sekitar 23 %. Menurut Indradewi, dkk. (2007), kandungan protein, lemak, serat kasar, glukosa dan HCN pada ubi kayu pahit, berturut-turut sekitar 1,2280 %, 0,4 %, 8,388 %, 0,9175 % dan 209,3877 mg/kg umbi.

2.3. Proses Fermentasi dan Jenis Mikroorganisme

Fermentasi adalah salah satu metode untuk mendetoksifikasi glukosida sianogenik dalam ubi kayu dan dapat meningkatkan nutrisi dan mutu organoleptik dari produk. Konsentrasi inokulum dan jenis mikroorganisme yang berperan sangat menentukan hasil akhir produk fermentasi, seperti kandungan gizi, tekstur, flavor dan aroma. Fermentasi dapat dilakukan menggunakan kultur murni ataupun alami serta dengan kultur tunggal ataupun kultur campuran. Kultur murni adalah mikroorganisme yang akan digunakan dalam fermentasi dengan sifat dan karakteristik yang diketahui dengan pasti sehingga produk yang dihasilkan memiliki stabilitas kualitas yang jelas (McNeil and Harvey, 1990; Sahlin, 1999; Odoemelam, 2005; Hidayat, 2007).

Secara tradisional pada beberapa produk fermentasi, selain diambil produk metabolitnya juga telah dikonsumsi atau dimanfaatkan oleh manusia bersama-sama dengan substratnya yang disebut biomassa mikroba. Contoh produk-produk tersebut adalah garri, growol, kecap, tauco, tempe, termasuk “Wikau Maombo”. Para petani di

Kabupaten Buton mengolah ubi kayu varietas pahit dengan cara tradisional melalui fermentasi, yang dikenal dengan nama “Wikau Maombo”. Kandungan HCN ‘Wikau Maombo’ hasil fermentasi alami selama 4 hari yaitu 62,8163 mg/kg, lemak 0,4 %, serat kasar 2,721 %, glukosa 0,6410 % dan kandungan protein meningkat menjadi 3,4457 % (Indradewi dkk., 2007).

Fermentasi dapat meningkatkan kandungan protein dan menurunkan kadar HCN pada kulit umbi ubi kayu dan kadar HCN pada tepung “garri” yang diproduksi dari umbi ubi kayu tumbuk (Odoemelan, 2005; Nurhayani dkk, 2001; Nurhayani, 2002; Oboh, 2006; Roger *et al.*, 2007). Kandungan sianida umbi ubi kayu mengalami penurunan lebih dari 70 % selama fermentasi menjadi ”bikedi” oleh aktivitas linamarase yang dihasilkan bakteri, melalui hidrolisis glukosida sianogenik. Kandungan sianida dalam umbi ubi kayu menurun drastis selama fermentasi dari 414 ppm menjadi 93 ppm. Bakteri asam laktat tertentu yang hadir di lingkungan fermentasi tahan pada konsentrasi sianida antara 200 dan 800 ppm (Kobawila, *et al.*, 2005). “Garri”, makanan populer di Nigeria dibuat dari umbi ubi kayu yang difermentasi mengalami penurunan kadar HCN selama fermentasi 6 – 72 jam dari 32,2 µg/g menjadi 0,8-3,8 µg/g (Odoemelan, 2005).

Industri fermentasi tradisional yang telah maju, mulai menggunakan kultur mikroorganisme hasil penelitian untuk menunjang penjaminan mutu produk. Mikroorganisme unggul dapat diperoleh dengan isolasi sendiri dari mikroorganisme alam lalu diikuti dengan screening. Industri fermentasi harus menggunakan jenis mikroorganisme yang unggul. Kelompok mikroorganisme yang umumnya terlibat dalam proses fermentasi bahan pangan adalah bakteri, kapang dan khamir (Buckle *et al.*, 1985; Hidayat, 2007; Sahlin, 1999).

2.3.1. Kapang Rhizopus

Karakteristik kapang genus *Rhizopus* yaitu koloninya tumbuh sangat cepat dan kasar serta tersebar. Koloni *Rhizopus* berwarna putih atau abu-abu, sporangium berwarna hitam atau gelap dan berisi spora pucat, mempunyai kolumela yang besar. Miselium muda mempunyai sekat, hifa berkembang menjadi tiga tipe, yaitu rhizoid bercabang menembus substrat, stolon menyamping pada permukaan substrat dan sporangiofor yang tumbuh ke arah atas (Malloch, 1981; Koneman, dkk., 1987).

Beberapa fungi dan bakteri yang diisolasi dari ubi kayu terfermentasi dapat melepaskan HCN dari linamarin dalam waktu 72 jam. *Bacillus* sp. menurunkan linamarin 1 % dari konsentrasi awal, *Mucor racemosus* sebesar 7 %, *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus stolonifer* sampai 30 %, tetapi *Neurospora sitophila* dan *Geotrichum candidum* tidak dapat mendegradasi linamarin (Essers, 2004). Proses fermentasi menggunakan kapang *Rhizopus oryzae*, dapat menghilangkan kadar sianida (HCN) ubi kayu pahit sebesar 18 – 100 persen serta meningkatkan kadar protein antara 0,5 – 2 kali tergantung varietas singkong. Fermentasi substrat padat dari tepung ubi kayu menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* secara signifikan meningkatkan kandungan protein dan lemak (Obloh dan Oladunmoye, 2007).

2.3.2. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Karakteristik bakteri asam laktat yaitu ukuran koloni kecil, bersifat Gram-positif, tidak membentuk spora, katalase-negatif. Bakteri asam laktat (BAL) meliputi *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Leuconostoc* (Holt *et al.*, 1994; Ampe *et al.*, 1999; Chelule, *et al.*, 2010). Keuntungan fermentasi oleh bakteri asam laktat pada bahan pangan, antara lain : membantu mengawetkan makanan. *Lactobacillus acidophilus* pada makanan fermentasi memberikan efek antikolesterolemik dan anticancerogenik, meningkatkan penyerapan mikronutrisi, khususnya besi dan zink, kandungan protein, vitamin dan mineral pada makanan, dan mengurangi toksin (sianida) yang secara alami terdapat pada ubi kayu, terutama ubi kayu varietas pahit (Sahlin, 1999).

Aktivitas bakteri asam laktat pada fermentasi bahan berpati berperan terhadap perubahan karakteristik produk untuk memproduksi asam laktat, enzim spesifik, dan senyawa aromatik (Reddy *et al.*, 2008; Petrov *et al.*, 2008; 1999; Marcon *et al.*, 2006 dalam Putri, dkk., 2012). Bakteri asam laktat dapat menghasilkan amilase ekstraseluler dan memfermentasi pati secara langsung menjadi asam laktat. Fermentasi dengan BAL amilolitik akan menggabungkan dua proses yaitu hidrolisis enzimatis substrat pati sekaligus fermentasi yang memanfaatkan gula yang dihasilkan menjadi asam laktat.

Menurut Kobawila *et al.*, (2005) bahwa populasi mikroorganisme selama fermentasi ubi kayu menjadi 'bikedi' terdiri dari kelompok bakteri, yaitu:

Lactobacillus, Lactococcus, dan Leuconostoc, khamir, yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida*, dan kapang. Fermentasi 'foo-foo' melibatkan bakteri asam laktat dan *Candida* sp. (Noordia, 2005; Odoemelam, 2005; Roger *et al.*, 2007). Kulit umbi ubi kayu yang difermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan 2 bakteri yaitu : *Lactobacillus delbruckii* dan *L. coryneformis* mengalami peningkatan protein menjadi 21,5 %, penurunan sianida menjadi 6,2 % dari 44,6 %, dan penurunan phytate menjadi 705,1 mg/100 g dari 1043,56 mg/100 g (Oboh, 2006).

2.4. Penelitian mengenai fermentasi umbi ubi kayu menggunakan mikroorganismes Lokal yang telah di laksanakan

Penelitian yang telah dilakukan pada "Wikau Maombo" menunjukkan bahwa mikroorganismes yang terlibat selama proses fermentasi terdiri dari kelompok bakteri, kapang, dan khamir (Hasirun, 2005; Indradewi, dkk, 2007; Nurhayani, 2010). Hasil fermentasi umbi ubi kayu menggunakan kultur tunggal mikroorganismes (Nurhayani, 2011) menunjukkan bahwa isolat dari kelompok kapang yang teridentifikasi sebagai spesies *Rhizopus oryzae* dapat menurunkan kadar HCN umbi ubi kayu pahit menjadi 16,4039 ppm dari kadar HCN 103,8352 ppm. Namun isolat ini menurunkan kadar protein menjadi 0,5923 % dari 0,6523 %. Salah satu bakteri yang teridentifikasi sebagai *Enterococcus casseliflavus*, termasuk ke dalam bakteri asam laktat (BAL), mampu menurunkan kadar HCN umbi ubi kayu menjadi 18,0875 ppm dari kadar HCN 103,8352 ppm dan meningkatkan protein dari 0,6523 % menjadi 0,8448 % .

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Penelitian secara umum bertujuan untuk mendapatkan formulasi inokulum dari kultur campuran mikroorganisme lokal yang unggul meningkatkan kandungan nutrisi umbi ubi kayu dengan tujuan khusus:

- 1) Mendapatkan kultur murni kapang *Rhizopus* sp. dan bakteri asam laktat yang memiliki daya amilolitik tertinggi untuk dikembangkan menjadi inokulum campuran
- 2) Mengetahui pengaruh berbagai variasi konsentrasi kultur kapang dan bakteri dalam inokulum campuran terhadap kandungan protein, lemak dan HCN umbi ubi kayu setelah fermentasi.
- 3) Mendapatkan formulasi perbandingan konsentrasi yang optimal dari kultur campuran kapang *Rhizopus* sp. dan bakteri asam laktat yang menghasilkan produk fermentasi umbi ubi kayu dengan kandungan protein tertinggi.

3.2. Manfaat Penelitian

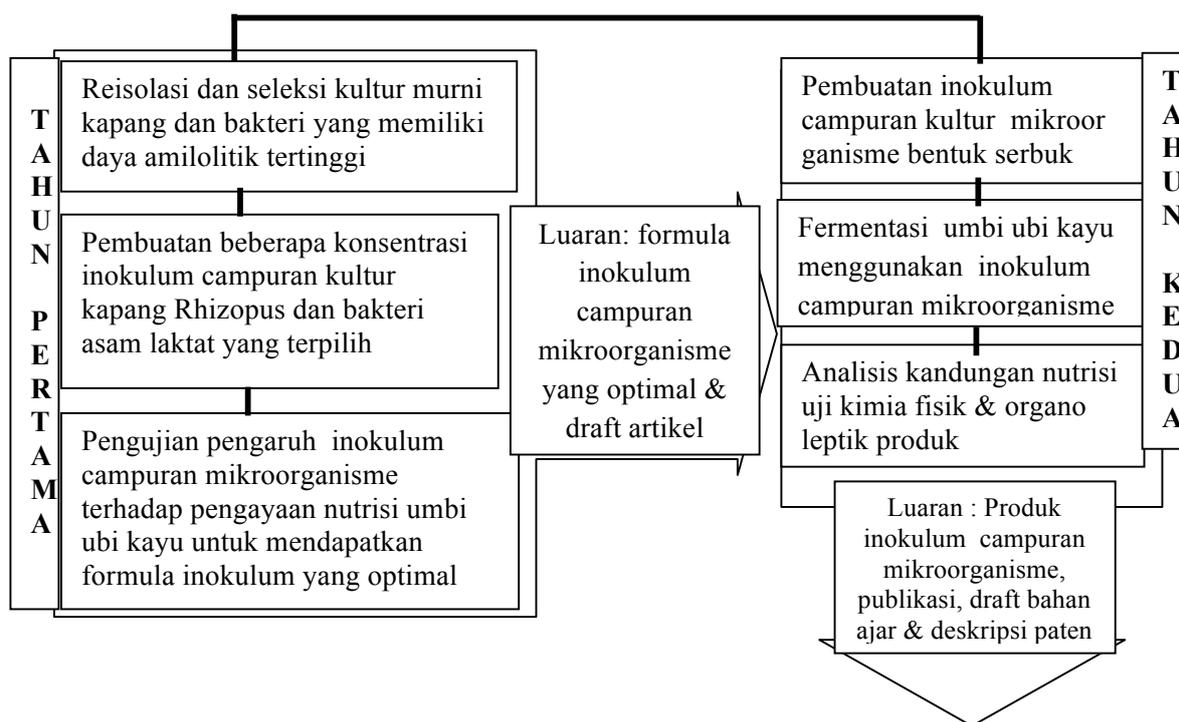
Penelitian ini diharapkan akan bermanfaat dalam:

- 1) Pengembangan inokulum campuran *Rhizopus* sp. dan Bakteri Asam Laktat (BAL) amilolitik lokal yang dapat diaplikasikan pada fermentasi pati mentah umbi ubi kayu.
- 2) Pengembangan formula kultur campuran mikroorganisme lokal menjadi inokulum bentuk ragi siap pakai yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat dan industri.
- 3) Pengembangan produksi makanan fermentasi dari umbi ubi kayu oleh mikroorganisme indigenus dengan kualitas dan kuantitas nutrisi yang tinggi dan aman bagi kesehatan.

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif menggunakan metode eksperimental dengan teknik fermentasi substrat padat. Bagan alir penelitian disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Bagan Alir Penelitian Pengembangan Inokulum Kultur Campuran Mikroorganismen Lokal untuk Pengayaan Nutrisi Umbi Ubi Kayu

4.2. Lokasi Penelitian

Penelitian yang meliputi reisolasi dan seleksi isolat-isolat mikroorganismen yang memiliki kemampuan amilolitik untuk pembuatan inokulum dan fermentasi substrat padat umbi ubi kayu skala laboratorium dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Halu Oleo. Bahan baku umbi ubi kayu untuk aplikasi inokulum campuran mikroorganismen diperoleh dari Kecamatan Mawasangka Kabupaten Buton Provinsi Sulawesi Tenggara.

4.3. Prosedur Penelitian Tahun I

Penelitian pada tahun I difokuskan pada teknologi pengembangan inokulum campuran mikroorganisme dengan memanfaatkan isolat-isolat mikroorganisme lokal dari fermentasi tradisional “Wikau Maombo”. Mikroorganisme yang dipilih untuk campuran inokulum adalah kultur murni dari kapang *Rhizopus* dan bakteri asam laktat yang memiliki daya amilolitik tertinggi. Tahapan penelitian sebagai berikut :

4.3.1. Reisolasi dan Seleksi Kapang *Rhizopus* dan Bakteri Asam Laktat Amilolitik

Pemilihan kultur murni isolat-isolat kapang dan bakteri asam laktat yang akan digunakan sebagai campuran inokulum melalui aktivasi dan uji daya amilolitik. Aktivasi isolat-isolat kapang dilakukan dengan cara reisolasi melalui metode *pour plate* pada medium *Potatoes Dextrose Agar* (PDA) dan isolat-isolat bakteri asam laktat pada medium *de Man Rogosa Sharp* (MRS) Agar yang disuplementasi dengan 1.5% CaCO₃. Koloni-koloni dengan ciri kapang *Rhizopus* (Malloch, 1981; Koneman, dkk., 1987) dan bakteri asam laktat (Holt *et al.*, 1994; Ampe *et al.*, 1999) dipisahkan dan dilakukan purifikasi. Selanjutnya diuji daya amilolitiknya pada media pati agar melalui metoda titik, dengan indikator gram-iodin (0.5% kristal iodin dalam 1.5% larutan kalium iodida). Daya amilolitik diketahui dengan menghitung Indeks amilolitik menggunakan rumus (Amri, 2004; Kusnadi dkk., 2009) sebagai berikut :

$$\text{Indeks Amilolitik} = \frac{\text{Rata-rata diameter zona bening} - \text{rata-rata diameter koloni}}{\text{rata-rata diameter koloni}}$$

4.3.2. Aktivasi Kultur Murni Mikroorganisme pada Medium Inokulum

Biakan murni yang tumbuh baik, diaktivasi pada medium inokulum *Nutrient Broth* + 50 % tepung umbi ubi kayu untuk bakteri dan *Potatoes Dextrose Broth* + 50 % tepung umbi ubi kayu untuk kapang. Biakan diinkubasi selama 2 x 24 jam dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm. Suspensi biakan cair ini siap digunakan sebagai inokulum dengan berbagai variasi konsentrasi. Jumlah sel masing-masing isolat dalam medium inokulum terlebih dahulu dihitung untuk menyeragamkan jumlah inokulum (10⁶-10⁸ cfu/mL) yang akan dicampurkan. Perhitungan jumlah sel mikroorganisme dilakukan dengan metode Standard Plate Count (SPC) (Cappucino & Sherman, 1987).

4.3.3. Formulasi Inokulum Campuran

Strain kapang *Rhizopus* sp. dan bakteri asam laktat amilolitik yang telah diaktivasi dan diketahui jumlah selnya dicampurkan dengan beberapa variasi formulasi konsentasi sebagai berikut :

- Inokulum A = 25 % kapang *Rhizopus* + 75 % bakteri asam laktat
- Inokulum B = 50 % kapang *Rhizopus* + 50 % bakteri asam laktat
- Inokulum C = 75 % kapang *Rhizopus* + 25 % bakteri asam laktat
- Inokulum D = 100 % kapang *Rhizopus*
- Inokulum E = 100 % bakteri asam laktat

4.3.4. Fermentasi Substrat Padat Umbi Ubi Kayu oleh Inokulum Campuran

Umbi ubi kayu kering hasil perendaman air garam 5 %, direndam dalam air dingin yang telah dididihkan selama 24 jam hingga konsistensi ubi kayu menjadi segar, lalu dipotong kecil-kecil, dan sebanyak 200 g dimasukkan ke sejumlah wadah steril sesuai perlakuan macam inokulum. Selanjutnya substrat disterilisasi dengan lampu UV 2 x 1 jam, lalu setiap substrat dalam wadah diinokulasi dengan inokulum campuran sebanyak 10 %, kemudian difermentasi pada suhu ruang selama 4 hari.

4.3.5. Analisis Kimia Kandungan Nutrisi Umbi Ubi Kayu Hasil Fermentasi

Analisis komposisi kimia dari umbi ubi kayu hasil fermentasi inokulum campuran meliputi kadar protein yang ditentukan dengan metode mikro-Kjeldahl ($N \times 6,25$) (Obloh, 2006). Kadar pati dan glukosa menurut Ghofar *et al.* (2005). Kadar asam laktat menurut Cordenunsi *et al.* (2004) dalam Obloh (2006), serta kadar HCN dengan metode *alkaline picrate* yang dimodifikasi (Sudarmadji, dkk., 1984; AOAC, 1990; Onwuka, 2005 ; Odoemelum, 2005).

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Reisolasi dan Seleksi Kapang *Rhizopus* dan Bakteri Asam Laktat Amilolitik

Kultur stok isolat-isolat kapang dari hasil penelitian sebelumnya diremajakan pada medium *Potatoes Dextrose Agar* (PDA). Hasil kultivasi menunjukkan semua isolat tumbuh dengan baik, sehingga dilanjutkan dengan pengujian aktivitas amilolitik. Hasil pengujian aktivitas amilolitik isolat-isolat kapang dari kultur stok hasil penelitian sebelumnya tidak menunjukkan adanya aktivitas amilolitik. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada saat penyimpanan stok kultur murni isolat dan saat peremajaan, semua isolat kapang disimpan menggunakan media *Potatoes Dextrose Agar* (PDA) tanpa penambahan pati. Oleh karena itu dilakukan reisolasi isolat kapang dan pengujian ulang aktivitas amilolitiknya.

5.1.1 Isolasi dan Seleksi Kapang *Rhizopus* Amilolitik

Aktivitas amilolitik dan karakter hasil reisolasi isolat-isolat kapang disajikan pada tabel 1. Data Tabel 1 menunjukkan bahwa dari 5 isolat yang sudah dipisahkan, semua isolat memiliki kemampuan amilolitik. Aktivitas amilolitik kelima isolat kapang ditunjukkan pada gambar 3

Tabel 1. Indeks amilolitik dan karakter isolat-isolat kapang lokal dari ‘Wikau Maombo’ terfermentasi secara tradisional

No.	Kode Isolat	Diameter (mm)		Indeks Amilolitik	Karakteristik Koloni			Karakteristik Mikroskopis		
		Zona bening	koloni		Warna	Bentuk	Tepi	Septa	Spora seksual	Spora aseksual
1.	FT2.1	1,35	0,9	0,5	Hitam	Bulat berhifa	Rata	asepta	+	Sporangi ospora
2.	FT3.1	4,32	2,4	0,8	Hijau	Bulat berhifa	Rata	septa	-	Konidia
3.	FT3.2	3,91	2,3	0,7	Hitam	Bulat berhifa	Rata	asepta	+	Sporangi ospora
4.	FT3.3	4,42	2,6	0,7	Coklat	Bulat berhifa	Tidak rata	septa	-	Konidia
5.	FT3.4	2,75	1,1	1,5	Hitam	Bulat berhifa	Rata	asepta	+	Sporangi ospora

Berdasarkan hasil seleksi pengujian aktivitas amilolitik isolat-isolat kapang lokal yang diperoleh dari “Wikau Maombo” pada Tabel 1. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ada tiga isolat yaitu FT2.1, FT3.2 dan FT3.4 yang memiliki ciri kapang *Rhizopus*. Satu isolat dari ketiga isolat tersebut memperlihatkan aktivitas amilolitik terbesar yaitu isolat FT3.4. Dengan demikian, maka isolat yang terpilih untuk dikembangkan pada formulasi kultur campuran adalah isolat kapang FT3.4 dengan indeks amilolitik sebesar 1,5.

Karakteristik kapang genus *Rhizopus* yaitu koloninya tumbuh sangat cepat dan kasar serta tersebar. Koloni *Rhizopus* berwarna putih atau abu-abu, sporangium berwarna hitam atau gelap dan berisi spora pucat, mempunyai kolumela yang besar. Miselium tanpa sekat dan miselium muda mempunyai sekat, hifa berkembang menjadi tiga tipe, yaitu rhizoid bercabang menembus substrat, stolon menyamping pada permukaan substrat dan sporangiofor yang tumbuh ke arah atas (Malloch, 1981; Koneman, dkk., 1987).

Menurut Gandjar et al., (2006) bahwa beberapa fungi yang mampu menghasilkan enzim amilase diantaranya ; *Penicilium*, *Cephalosporium*, *Mucor*, *Neurospora*, dan *Rhizopus*. Enzim amilase merupakan enzim ekstraseluler, yaitu enzim yang dihasilkan di dalam sel dan dilepaskan ke dalam medium fermentasi yang mengelilingi sel hingga dapat menghidrolisis makromolekul, Dalam hal ini pati, yang semula tidak larut menjadi larut dan dapat diserap sel (Amri, 2004). Selanjutnya Kumar and Shivakumar (2014) melaporkan bahwa beberapa anggota dari kapang *Rhizopus* amilolitik memiliki kemampuan menghasilkan asam laktat. Dengan demikian isolat *Rhizopus* amilolitik yang diperoleh pada penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan menjadi inokulum campuran dengan Bakteri Asam Laktat (BAL) untuk fermentasi umbi ubi kayu mentah.

5.1.2. Reisolasi dan aktivitas amilolitik Bakteri Asam Laktat (BAL)

Aktivitas amilolitik dan karakter hasil reisolasi isolat-isolat bakteri asam laktat (BAL) disajikan pada tabel 2. Hasil reisolasi dan pengujian aktivitas amilolitik isolat-isolat bakteri asam laktat (BAL) (Tabel 2) menunjukkan bahwa dari 18 isolat yang sudah dipisahkan, terdapat 4 isolat yang memiliki daya amilolitik. Aktivitas amilolitik terbesar dihasilkan oleh isolat C dengan indeks amilolitik 2,05.

Tabel 2. Aktivitas amilolitik dan karakter isolat-isolat bakteri asam laktat lokal dari 'Wikau Maombo' terfermentasi secara tradisional

No.	Kode Isolat	Diameter (mm)		Indeks Amilolitik	Karakteristik				
		Zona jernih	koloni		Warna koloni	Bentuk koloni	Tepi koloni	Bentuk sel	Sifat Gram
1.	A	1,90	0,8	1,38	kekuningan	Sircular	entire	coccus	positif
2.	B	2,23	0,8	1,79	kekuningan	Sircular	entire	coccus	negatif
3.	C	2,44	0,8	2,05	kuning	Sircular	entire	Basil	positif
4.	D	0	0,8	0	kekuningan	Sircular	entire	-	-
5.	E	0	0,8	0	putih	Sircular	entire	-	-
6.	F	0	0,8	0	putih-kuning	Sircular	entire	-	-
7.	G	0	0,8	0	putih-keruh	Sircular	entire	-	-
8.	H	0	0,8	0	putih-keruh	Sircular	entire	-	-
9.	I	1,90	0,8	1,38	putih	Sircular	entire	Basil	positif
10.	J	0	0,8	0	kekuningan	Irregular	entire	-	-
11.	K	0	0,8	0	putih	Sircular	entire	-	-
12.	L	0	0,8	0	putih	Sircular	entire	-	-
13.	M	0	0,8	0	putih	Sircular	entire	-	-
14.	N	0	0,8	0	putih-keruh	Sircular	entire	-	-
15.	O	0	0,8	0	putih-keruh	Irregular	entire	-	-
16.	P	0	0,8	0	putih	Sircular	entire	-	-
17.	Q	0	0,8	0	putih	Sircular	entire	-	-
18.	R	0	0,8	0	putih-keruh	Sircular	entire	-	-

Keterangan : - : tidak dilakukan

Berdasarkan hasil reisolasi dan pengujian aktivitas amilolitik isolat kapang *Rhizopus* dan bakteri asam laktat (BAL) dari " Wikau Maombo" yang terfermentasi secara tradisional, maka dipilih satu isolat terbaik kapang yaitu isolat kapang FT3.4 dan isolat bakteri asam laktat C. Kedua isolat inilah yang akan dikembangkan menjadi inokulum campuran untuk pengayaan nutrisi umbi ubi kayu pahit.

5.2. Kandungan Nutrisi Umbi Ubi Kayu Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Bakteri Asam Laktat (BAL) dan *Rhizopus* sp. Lokal

Hasil analisis kandungan nutrisi umbi ubi kayu hasil fermentasi inokulum campuran kapang *Rhizopus* sp. dan BAL amilolitik dengan beberapa variasi formula (Tabel 3), menunjukkan bahwa kandungan protein umbi ubi kayu hasil fermentasi inokulum mikroorganisme lokal rata-rata mengalami peningkatan dibandingkan kontrol. Kandungan protein umbi ubi kayu berturut-turut dari yang tertinggi dihasilkan pada perlakuan inokulum 100% kapang *Rhizopus* sp. yaitu 13,70 %, inokulum campuran

50 % Rhizopus dan 50 % BAL yaitu 13,41%, inokulum campuran 25 % Rhizopus dan 75 % BAL yaitu 12,99 %, inokulum campuran 75 % Rhizopus dan 25 % BAL yaitu 12,39 %, inokulum 100 % BAL yaitu 11,55 %. Kandungan HCN umbi ubi kayu hasil fermentasi inokulum mikroorganisme lokal rata-rata mengalami penurunan dibandingkan kontrol. Demikian pula pada kandungan lemak juga rata-rata mengalami penurunan dibandingkan kontrol.

Tabel 3. Kandungan Protein, Lemak, HCN "Wikau Maombo" Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Rhizopus sp. dan BAL Lokal

No.	Kode Sampel	Satuan	Parameter Uji		
			Protein	HCN	Lemak
1	A (RH 25% : BAL 75%)	%	12,99	12,28	0,24
2	B (RH 50% : BAL 50%)	%	13,41	11,60	0,27
3	C (RH 75% : BAL 25%)	%	12,39	11,20	0,26
4	D (RH 100 %)	%	13,70	11,62	0,26
5	E (BAL 100%)	%	11.55	12,28	0,27
6	F (Kontrol)	%	5.90	13,20	0,30

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANAVA) kandungan protein umbi ubi kayu hasil fermentasi inokulum mikroorganisme lokal (Tabel 4), diketahui bahwa perlakuan variasi formulasi inokulum memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kandungan protein.

Tabel 4. Hasil Uji Sidik Ragam (ANAVA) Kandungan Protein,"Wikau Maombo" Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Rhizopus sp. dan BAL Lokal

Sumber Keragaman	JK (Jumlah Kuadrat)	DB (Derajat Bebas)	Rata-rata Jumlah Kuadrat	F-hitung	Signifikan
Model	2573.948 ^a	6	428.991	5304.923	.000
Kode	2573.948	6	428.991	5304.923	.000
Error	.970	12	.081		
Total	2574.919	18			

*Berbeda nyata <0.05

Hasil uji Duncan (Tabel 5), menunjukkan bahwa ada pengaruh yang signifikan dari variasi formula inokulum, terlihat variasi perlakuan D (Rhizopus sp. 100 %) berada pada subset yang sama dengan perlakuan variasi formula inokulum B (Rhizopus sp. 50 % : BAL 50 %). Hal ini berarti formula yang menghasilkan kandungan protein tertinggi setelah perlakuan inokulum tunggal Rhizopus sp. adalah perlakuan inokulum campuran yang terdiri dari 50 % kapang Rhizopus sp. dan 50 % Bakteri Asam Laktat (BAL). Dengan demikian formulasi campuran inokulum mikroorganisme lokal yang terpilih untuk dikembangkan sebagai serbuk inokulum pada penelitian tahun kedua yaitu inokulum campuran mikroorganisme yang terdiri dari 50 % Rhizopus (isolat FT3.4) dan 50 % Bakteri asam laktat (BAL) (isolat C).

Tabel 5. Hasil Uji Duncan Kandungan Protein, "Wikau Maombo" Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Rhizopus sp. dan BAL Lokal

Sampel	N	Subset				
		1	2	3	4	5
F (Kontrol)	3	5.9000				
E (BAL 100%)	3		11.5500			
C (RH 75% : BAL 25%)	3			12.3900		
A (RH 25% : BAL 75%)	3				12.9900	
B (RH 50% : BAL 50%)	3				13.4100	13.4100
D (RH 100 %)	3					13.7000
Sig.		1.000	1.000	1.000	.096	.235

Kandungan protein yang tinggi pada produk "Wikau Maombo" hasil fermentasi inokulum kapang Rhizopus dan Bakteri Asam Laktat (BAL) membuktikan bahwa proses pertumbuhan kapang Rhizopus dan BAL berlangsung dengan baik. Hal ini juga menunjukkan bahwa sumber nutrisi pada umbi ubi kayu memenuhi kebutuhan pertumbuhan bagi kapang dan bakteri. Sebagaimana telah dilaporkan bahwa proses fermentasi menggunakan kapang *Rhizopus oryzae*, dapat menghilangkan kadar sianida (HCN) ubi kayu pahit sebesar 18 – 100 persen serta meningkatkan kadar protein antara 0,5 – 2 kali tergantung varietas singkong. Fermentasi substrat padat dari tepung umbi ubi kayu menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Saccharomyces cerevisiae* secara signifikan meningkatkan kandungan protein dan lemak (Oboh dan Oladunmoye, 2007).

BAB VI. RENCANA PENELITIAN TAHUN BERIKUTNYA

Prosedur Penelitian Tahun Kedua

6.1. Pembuatan Inokulum Serbuk dari Kultur Campuran Mikroorganismes Lokal Hasil Penelitian Tahun I

Pembuatan inokulum (ragi) dari kultur campuran mikroorganismes berdasarkan formulasi yang terpilih pada penelitian Tahun I. Inokulum dibuat dengan bahan baku tepung beras mengacu pada pembuatan ragi tape yang dimodifikasi. Sebanyak 1 Kg tepung beras dikeringkan dengan oven suhu 65°C lalu ditambah ekstrak rempah-rempah yang terdiri dari bawang putih, lada lengkuas dan jeruk nipis serta air matang sehingga terbentuk adonan. Adonan ditambahkan suspensi kultur murni kapang *Rhizopus* dan bakteri asam laktat sesuai formulasi yang terpilih sebanyak 10 % dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruang dalam wadah tertutup. Selanjutnya adonan dikeringkan dengan *fresh dryer* hingga membentuk serbuk kering (Suliantari dan Rahayu, 1990). Serbuk ini siap digunakan sebagai inokulum atau ragi pada fermentasi umbi ubi kayu mentah.

6.2. Fermentasi Substrat Padat Umbi Ubi Kayu oleh Inokulum Serbuk Campuran Mikroorganismes Lokal

Prosedur fermentasi sama pada tahapan poin 4.3.4.

6.3. Analisis Kimia Kandungan Nutrisi Umbi Ubi Kayu Hasil Fermentasi

Prosedur analisis sama pada tahapan poin 4.3.5.

6.4. Uji Kimia Fisik dan Organoleptik Produk Inokulum dan Produk Fermentasi Umbi Ubi Kayu

Pengujian kimia fisik untuk menjamin kualitas dan keamanan produk inokulum dan produk fermentasi umbi ubi kayu dilakukan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) Provinsi Sulawesi Tenggara. Uji organoleptik menggunakan uji Hedonik dengan rentang skala numerik “5” untuk menilai sifat produk yang meliputi : aroma, warna, tekstur dan rasa. Uji ini menggunakan 20 orang panelis yang terdiri dari mahasiswa Biologi FMIPA Unhalu. Para panelis menilai produk yang disajikan sesuai lembar penilaian yang dibuat oleh penyaji (Rahayu, 1998; Sobawale, *et al.*, 2007).

6.5. Analisa Data

Hasil pengukuran kadar nutrisi dianalisis secara deskriptif melalui tabulasi data. Sedangkan data hasil pengujian uji organoleptik yang diperoleh, ditabulasi dan dianalisa Friedman dengan uji lanjut Wilcoxon melalui program *SPSS for Windows Version 17*.

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Hasil penelitian sampai pada tahapan penulisan laporan kemajuan penelitian ini menunjukkan bahwa :

- 1) Diperoleh 5 isolat kapang dan 18 isolat bakteri asam laktat (BAL) dari “Wikau Maombo” yang terfermentasi secara tradisional.
- 2) Tiga isolat kapang menunjukkan karakter kapang *Rhizopus* dan satu diantaranya yaitu isolat FT3.4 memperlihatkan aktivitas amilolitik tertinggi yang akan dikembangkan untuk formulasi inokulum campuran. Ada empat isolat bakteri asam laktat yang memperlihatkan aktivitas amilolitik dan terpilih isolat bakteri C untuk dikembangkan menjadi inokulum campuran.
- 3) Kandungan protein umbi ubi kayu hasil fermentasi inokulum mikroorganisme lokal rata-rata mengalami peningkatan dibandingkan kontrol. Kandungan protein umbi ubi kayu yang tertinggi dihasilkan pada perlakuan inokulum 100% kapang *Rhizopus* sp. yaitu 13,70 % dan perlakuan inokulum campuran 50 % *Rhizopus* sp. dan 50 % BAL yaitu 13,41%.
- 4) Formulasi campuran inokulum mikroorganisme lokal yang terpilih untuk dikembangkan sebagai serbuk inokulum pada penelitian tahun kedua yaitu inokulum campuran mikroorganisme yang terdiri dari 50 % *Rhizopus* (isolat FT3.4) dan 50 % Bakteri asam laktat (BAL) (isolat C)

7.2. Saran

Sebaiknya untuk penelitian berikut, pencairan dana tepat waktu sesuai jadwal pelaksanaan kegiatan agar pelaporan hasil kegiatan penelitian dapat mencapai target sesuai jangka waktu yang telah ditentukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ampe, F., N.b. Omar, C. Moizan, C. Wachter and J. P. Guyot. 1999. Polyphasic Study of the Spatial Distribution of Microorganisms in Mexican Pozol, a Fermented Maize Dough, Demonstrates the Need for Cultivation-Independent Methods To Investigate Traditional Fermentations. *Appl Environ Microbiol.* Vol. 65. No.12: 5464–5473.
- Ampe, F. 2000. Design and Evaluation of *Lactobacillus manihotivorans* Species-Specific rRNA-Targeted Hybridization Probe and Its Application to the Study of Sour Cassava Fermentation. *Applied and Env. Microbiology*, Vol. 66, No 5
- Amri, E. 2004. Aktivitas Amilase dan Protease yang Dihasilkan oleh Isolat Aktinomisetes. Skripsi Sarjana FMIPA IPB Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Anonim. 2008. *Cassava*. Wikipedia, the free Encyclopedia. <http://en.Wikipedia.org/wiki/cassava>
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. *Agricultural Chemicals, Contaminant, Drugs.*, Vol 1., Association of Official Analytical chemists., Washington D.C.
- BPS Provinsi Sulawesi Tenggara, 2012. Produksi Padi dan Palawija. *Berita Resmi Statistik Provinsi Sulawesi Tenggara*, No. 01/11/74/Th.II, 01 November 2012.
- Buchanan, R.E. and N.E Gibbons. 1975. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eighth Edition. The Williams & Wilkins Company. U.S.A.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet dan M. Wooton. 1985. *Ilmu Pangan*. Penerjemah : Hari Purnomo dan Adiono. UI-Press, Jakarta.
- Cappucino, J.C and N. Sherman. 1987. *Microbiology : Laboratory Manual*. The Benjamin Cummings Publishing Company.
- Essers, A.J.A., M. H. J. Bennik and M. J. R. Nout. 2004. Mechanisms of Increased linamarin During Solid-substrate Fermentation of Cassava. *World J. of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 11, No. 3. P 266-270.
- Gardjito, M. 2004. *Kalori Singkong Terbaik*. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Ghofar, A., S. Ogawa and T. Kokugan. 2005. Production of L-Lactic Acid from Fresh Cassava Roots Slurried With Tofu Liquid Waste by *Streptococcus bovis*, *J. of Bioscience and Bioengineering*
- Guyot, J.P., M. A. Brizuela, R. Rodriguez Sanoga and J. Morton-Guyot. 2003. Characterization and Differentiation of *Lactobacillus manihotivorans* Strains Isolated from Cassava Sour Starch. *International Journal of Food Microbiology*. (Abstract). Vol. 87, Issue 1-2
- Hasirun, M. 2005. *Karakteristik Mikroorganisme "Wikau Maombo" (Makanan Fermentasi Tradisional Kabupaten Buton)*. Skripsi. Tidak dipublikasikan. FMIPA, Unhalu. Kendari.
- Hidayat, N. 2007. *Fermentasi*. <http://ptp.2007.word.press.com/>
- Hillocks, J. R., J. M. Thresh, and A.C. Bellotti. 2002. Cassava : Biology, Production and Utilization. http://www.ciat.cgiar.org/downloads/pdf/cabi_17ch14.pdf

- Holt, J.G., N. R. Kreig, P.H. A. Sneath, J. T. Staley, and S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. The Williams & Wilkins Company. Tokyo.
- Ihedioha, J. I. 2002. The Clinicopathologic Significance of Enriching Grated Cassava Mash with Red Palm Oil in The Production Gari. *Plant Foods for Human Nutrition*. Vol.57 ; 215-305.
- Inradewi, F., Nur Arfa Yanti dan Nurhayani H.M.. 2007. Komposisi Kimia dan Mikroorganisme "Wikau Maombo". Laporan Hasil Penelitian Dosen Muda-Dikti Tahun Anggaran 2006-2007.
- Kobawila, S.C., D. Louembe, S. Keleke, J. Hounhouigan, and C. Gamba. 2005. Reduction of the Cyanide Content During Fermentation of Cassava Roots and Leaves to Produce Bikeli and Ntoba Mbodi, Two Food from Congo. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 4, No. 7, pp. 689-696.
- Kusnadi, Saefuddin dan A. Efrianti. 2009. Keanekaragaman Jamur Selulolitik dan Amilolitik Pengurai Sampah Organik dari Berbagai Substrat. Makalah PBI, Malang.
- Kumar, R. And S. Shivakumar. 2014. Production of L-Lactic Acid from Starch and Food Waste by Amylolytic *Rhizopus oryzae* MTCC. *International Journal of ChemTech Research*. Vol.6, No.1: 527-537
- Lingga, P. 1992. *Bertanam Ubi-ubian*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Malloch, D. 1981. *Moulds : Their Isolation, Cultivation and Identification*. University of Toronto Press. London.
- McNeil, B. and L. M. Harvey. 1990. *Fermentation : A Practical Approach*. Oxford University Press, New York.
- Nurhayani H.M., N. Juli dan I. N. P. Aryantha., 2001. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *Jurnal Matematika dan Sains*, 6, hlm 1-12. <http://www.fmipa.itb.ac.id/jms/file>.
- Nurhayani H. M. 2002. Perubahan Kandungan Nutrisi Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi Beberapa Macam Ragi. *Paradigma*, 6, hl 37-44.
- Nurhayani H. M. 2010. *Pengembangan Teknologi Fermentasi Umbi Ubi Kayu Pahit (Manihot aipi phol) menggunakan Isolat Mikroorganisme Lokal untuk Menurunkan HCN dan Meningkatkan Protein "Wikau Maombo"*. Laporan Hibah Desertasi Doktor. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nurhayani H. M. 2011. *Evaluasi Kandungan Gizi "Wikau Maombo" Hasil Fermentasi Mikroorganisme Lokal dan Pengaruh Klinikopatologis pada Tikus Putih Wistar (Rattus norvegicus)*. Disertasi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Oboh, G. 2005. Isolation and Characterization of Amylase from Fermented Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Waste-water. *Afr. J. Biotech.* Vol. 4, No. 10.
- Oboh, G. 2006. Nutrient Enrichment of Cassava Peels Using a Mixed Culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* spp. Solid Media Fermentation Techniques. *Electronic J. of Biotechnology*. Vol. 5, No. 1.

- Oboh, G. and M. K. Oladunmoye. 2007. Biochemical Changes in Micro-fungi Fermented Cassava Flour Produced from Low-and Medium- Cyanide Variety of Cassava Tubers. *Nutr. Health*. Vol. 18. No. 4 :355 – 367
- Odoemelam, S. A. 2005. Studies on Residual Hydrocyanic Acid (HCN) in Garri Flour Made from Cassava (*Manihot* spp.). *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol. 4, No. 6.
- Onwuka, G.I., 2005. Food Analysis and Instrumentation (Theory and Practice). 1st Edn., Naphthali Prints, Surulere, Lagos-Nigeria, pp: 140-160.
- Putri, W. D. R., Haryadi, Dj.W. Marseno, dan M. N. Cahyanto. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik Selama Fermentasi Growol, Makanan Tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol.13 No.152-60
- Rahayu, W. P. 1998. Penuntun Praktikum Penilaian Organoleptik. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Reddy G, Altaf M.D, Naveena B.J, Venkateshwar M., and Kumar E.V. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation, a review. *Biotechnology Advances* 26: 22–34
- Sahlin, P. 1999. *Fermentation as a Method of Food Processing*. Lund Institute of Technology.
- Sobawale, A. O., T.O. Olurin and O.B. Oyewale. 2007. Effect of Lactic Acid Bacteria culture Fermentation of Cassava on Chemical and Sensory Characteristics of Fufu Flour. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 6 (16) , pp 1954-1958.
- Sudarmadji, S., B. Haryanto, dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi ketiga. Penerbit: Liberty, Yogyakarta.
- Sudarmonowati, E., N. S. Hartati, dan A. Amzal 2008. *Perbaikan Sifat Ubi kayu dan Pengembangannya untuk Ketahanan Pangan dan Nutrisi*. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi, LIPI.
- Suliantari dan W. P. Rahayu., 1991. *Teknologi Fegmentasi Umbi-umbian dan Biji-bijian*. DEPDIBUD-PAU Pangan dan Gizi, IPB. Bogor.

Lampiran 1. Data Hasil Analisis Kandungan Protein, Lemak Dan HCN Umbi ubi Kayu Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Mikroorganisme Lokal

Tabel 6. Data Hasil Analisis Kandungan Protein Umbi ubi Kayu Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Mikroorganisme Lokal

Kode Isolat	Ulangan			Total (%)	Rerata (%)
	1	2	3		
BAL 100%	11,17	11,23	12,25	34,65	11,55
BAL 1 : RH3	12,22	12,37	12,58	37,17	12,39
BAL 1 : RH1	13,34	13,41	13,48	40,23	13,41
BAL 3 : RH1	13,09	12,83	13,05	38,97	12,99
RH 100%	13,88	13,75	13,47	41,10	13,70
Kontrol	5,89	6,03	5,78	17,70	5,90

Tabel 7 . Data Hasil Analisis Kandungan Lemak Umbi ubi Kayu Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Mikroorganisme Lokal

Kode Isolat	Ulangan			Total (%)	Rerata (%)
	1	2	3		
BAL 100%	0,32	0,27	0,22	0,81	0,27
BAL 1 : RH3	0,34	0,26	0,18	0,78	0,26
BAL 1 : RH1	0,31	0,29	0,21	0,81	0,27
BAL 3 : RH1	0,38	0,14	0,20	0,72	0,24
RH 100%	0,33	0,24	0,21	0,78	0,26
Kontrol	0,30	0,35	0,25	0,90	0,30

Tabel 8. Data Hasil Analisis Kandungan HCN Umbi ubi Kayu Hasil Fermentasi Inokulum Campuran Mikroorganisme Lokal

Kode Isolat	Ulangan			Total (%)	Rerata (%)
	1	2	3		
BAL 100%	12,33	12,21	12,30	36,84	12,28
BAL 1 : RH3	11,21	11,13	11,26	33,60	11,20
BAL 1 : RH1	11,65	11,56	11,59	34,80	11,60
BAL 3 : RH1	12,37	12,56	12,57	37,50	12,50
RH 100%	11,36	11,81	11,69	34,86	11,62
Kontrol	13,04	13,25	13,31	39,60	13,20



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

Gedung D5. Lt.1 Kampus Sekaran Gunungpati Semarang Kode Pos 50229, Telp. (024) 8508112
Telp. Dekan 8508005, Fax. (024) 8508005, Jur. Matematika (024) 8508032, Jur. Fisika (024) 8508034
Jur. Kimia (024) 8508035, Jur. Biologi (024) 8508033, Website : <http://mipa.unnes.ac.id>, Email : mipa@unnes.ac.id.

Nomor : 04/SemNasBIO/2014
Hal : Penerimaan Pemakalah Seminar Nasional Tahunan
Biologi UNNES 2014

Yth. Ibu Nurhayani H. Muhiddin
di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo
Kendari

Dengan hormat,

Menindaklanjuti pengiriman abstrak dan makalah lengkap dengan judul "Isolasi dan Seleksi Kapang *Rhizopus* sp. Amilolitik Lokal dari Wikau Maombo Terfermentasi" kepada kami dalam rangka Seminar Nasional Biologi FMIPA Unnes 2014. Dengan ini kami mengundang Ibu untuk menyajikan makalah tersebut pada:

Hari/tanggal : Sabtu, 29 November 2014
Waktu : Pukul 08.00-17.00 WIB
Tempat : Gedung D4 Lt 1. FMIPA Kampus Unnes Sekaran
Gunungpati Semarang 50229

Kami mengharapkan kerjasama Ibu untuk menyiapkan bahan untuk presentasi dan diskusi dengan durasi waktu selama 10-15 menit.

Atas kesediaan dan kerjasama Ibu, kami ucapkan terima kasih.

Hormat kami,
Ketua Panitia Seminar Nasional



Dr. Y. Ulung Anggraito, M.Si
NIP. 19640427 199003 1003



**ISOLASI DAN SELEKSI KAPANG *Rhizopus* sp. AMILOLITIK
LOKAL DARI “WIKAU MAOMBO” TERFERMENTASI**



Disampaikan pada ;

**Seminar Nasional Biologi 2014
Pada Tanggal 29 November 2014
Di Universitas Negeri Semarang**

Oleh :

**Dr. Nurhayani H. Muhiddin, M.Si
Dra . Asmawati Munir, M.Si.**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HALU OLEO
KENDARI**

**Isolation and Selection Mould of Amyolytic *Rhizopus* sp. Local from
"Wikau Maombo" Fermented.**

Isolasi dan Seleksi Kapang *Rhizopus* sp. Amilolitik Lokal dari "Wikau Maombo"
Terfermentasi



Nurhayani H. Muhiddin¹⁾ dan Asmawati Munir²⁾

- 1) Jurusan Biologi FMIPA UHO, Email: nurhayani08@gmail.com
- 2) Jurusan PMIPA FKIP UHO, Email : asmawati.munir@ymail.com

ABSTRACT

Research aim to obtain special microorganism isolate of mould group of *Rhizopus* owning ability of amyolytic of " Wikau Maombo" fermented. " Wikau Maombo" is one of the typical food of Provinsi South-East Sulawesi base on cassava, made from bitter cassava root without addition of yeast by traditionally fermentation. Select microorganism which grow from environment happened spontaneously and condition of environment do not be controlled. Mould of *Rhizopus* owning ability of highest amyolytic will be developed for the making of mixture culture inoculum. This research is eksploratif. Result of research indicate that from five obtained mould isolates of " Wikau Maombo" fermented, there are three isolates that is FT2.1, FT3.2 and of FT3.4 owning mould characteristic of *Rhizopus*. One mould isolat of *Rhizopus* showing activity of biggest amyolytic that is FT3.4 isolate, with index of amyolytic equal to 1,5.

Key Words : *Rhizopus*, amyolytic, fermentation, "Wikau Maombo"

ABSTRAK

Penelitian bertujuan memperoleh isolat mikroorganisme khusus kelompok kapang *Rhizopus* yang memiliki kemampuan amilolitik dari "Wikau Maombo" terfermentasi. "Wikau Maombo" adalah salah satu makanan khas Provinsi Sulawesi Tenggara berbasis ubi kayu dibuat melalui fermentasi umbi ubi kayu pahit secara tradisional tanpa penambahan ragi. Seleksi mikroorganisme yang tumbuh dari lingkungan terjadi secara spontan dan kondisi lingkungan tidak terkontrol. Kapang *Rhizopus* yang memiliki kemampuan amilolitik tertinggi akan dikembangkan untuk pembuatan inokulum kultur campuran. Penelitian bersifat eksploratif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari lima isolat kapang yang diperoleh dari "Wikau Maombo" terfermentasi, terdapat tiga isolat yaitu FT2.1, FT3.2 dan FT3.4 yang memiliki ciri kapang *Rhizopus*. Satu isolat kapang *Rhizopus* yang memperlihatkan aktivitas amilolitik terbesar yaitu isolat FT3.4, dengan indeks amilolitik sebesar 1,5.

Kata kunci : *Rhizopus*, amilolitik, fermentasi, "Wikau Maombo"



SERTIFIKAT

diberikan kepada

NURHAYANI H. MUHIDDIN
atas peran serta sebagai

PEMAKALAH

Seminar Nasional Biologi 2014

“Biologi: Penelitian, Pengembangan, dan Pembelajarannya”
Semarang, 29 November 2014



Dekan FMIPA
Universitas Negeri Semarang



Prof. Dr. Wiyanto, M.Si
P. 196310121988031001

SEMNAS BIO 2014
Universitas Negeri Semarang

Ketua Panitia

Dr. Y. Ulung Anggraito, M.
NIP. 196404271990031003