

PENGARUH KONSENTRASI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei* DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA TEPUNG KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERFERMENTASI

SKRIPSI

Oleh:

FAIZATUL AMANAH

NIM. 13620110



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

PENGARUH KONSENTRASI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei* DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA TEPUNG KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERFERMENTASI

SKRIPSI

Oleh:

**FAIZATUL AMANAH
NIM. 13620110**

**diajukan kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN)
Maulana Malik Ibrahim
Untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

PENGARUH KONSENTRASI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei* DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA TEPUNG KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERFERMENTASI

SKRIPSI

Oleh:

**FAIZATUL AMANAH
NIM. 13620110**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal : 24 Desember 2020

Pembimbing I



Ir. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901 199803

Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M.Sc
19860512 20160801 1060

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP 19741018 2003 12 2 002

PENGARUH KONSENTRASI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei* DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA TEPUNG KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERFERMENTASI

SKRIPSI

Oleh:

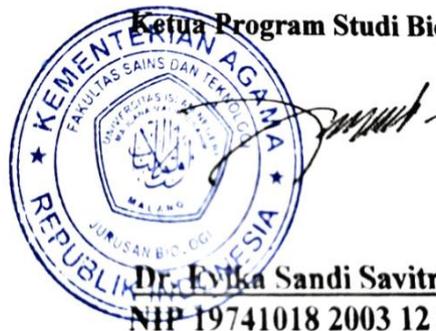
FAIZATUL AMANAH
NIM. 13620110

Telah Dipertahankan
Di Depan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima sebagai
Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 27, Desember 2020

Penguji Utama	<u>Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	<u>Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc</u> NIPT. 19900428 20160801 2 062	
Sekretaris Penguji	<u>Ir. Liliek Harianie AR, M.P</u> NIP. 19620901 199803	
Anggota Penguji	<u>Mujahidin Ahmad, M.Sc</u> 19860512 20160801 1060	

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi


Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP 19741018 2003 12 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada

Abi Moch. Rohim (my beloved father and first love) dan Umi Nur Hayati terimakasih atas semangat, dukungan, masukan, saran, serta Do'a yang tak pernah putus. Terimakasih atas kepercayaan yang diberikan kepada penulis serta petuah-petuah dan ceritanya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

MOTTO

EVERYTHING HAPPEN FOR A REASON

AND WHATEVER THE REASON IS

GOD WIIL ALWAYS BY OUR SIDE

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Faizatul Amanah

NIM : 13620110

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Casei* Dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia Tepung Kulit Singkong (*Manihot Esculenta*) Terfermentasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 25 Desember 2020
Yang membuat pernyataan,



Faizatul Amanah

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus casei* dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia Tepung Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Terfermentasi

Faizatul Amanah, Liliek Harienie, Mujahidin Ahmad

ABSTRAK

Kulit singkong merupakan salah satu limbah tanaman pangan dan industri yang dapat dimanfaatkan. Kulit singkong juga dapat diolah menjadi produk pangan yang bernilai ekonomis tinggi, antara lain dengan diolah menjadi kripik kulit singkong dan tepung ferkusi. Tepung Ferkusi merupakan tepung fermentasi kulit singkong yang memanfaatkan bakteri asam laktat. Penggunaan bakteri asam laktat untuk proses pembuatan ferkusi menghasilkan produk yang lebih baik dari protein yang dihasilkan maupun penurunan kadar sianida dan serat kasar. Bakteri asam laktat yang diyakini memiliki aktivitas probiotik adalah *Lactobacillus casei*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* dan lama fermentasi terhadap karakteristik sifat kimia tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) serta kombinasi perlakuan terbaiknya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni yang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan menggunakan dua faktor. Faktor yang A adalah konsentrasi *Lactobacillus casei* yang terdiri dari A₀ (kontrol), A₁ (konsentrasi 2%), A₂ (konsentrasi 4%), dan A₃ (konsentrasi 6%). Sedangkan faktor B adalah lama fermentasi tepung kulit singkong yang terdiri dari B₁ (lama penyimpanan 24 jam), B₂ (lama penyimpanan 72 jam), dan B₃ (lama penyimpanan 120 jam). Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu kadar serat, kadar protein, kadar asam sianida (HCN) dan uji prebiotik (kadar total BAL). Konsentrasi bakteri asam laktat *L. casei* dan lama fermentasi berpengaruh terhadap karakter kimiatepung kulit singkong (*M. esculenta*) berdasarkan kadar asam sianida, serat kasar, dan protein. Konsentrasi *L. casei* 6% dan lama fermentasi 120 jam menunjukkan hasil paling optimal dalam mempengaruhi karakter kimiatepung kulit singkong (*M. esculenta*) yang ditunjukkan dengan penurunan kadar asam sianida (48,9 mg/kg menjadi 7,3 mg/kg) dan serat kasar (22,058% menjadi 10,601%) , serta peningkatan total protein (8,09 mg/100 g menjadi 14.25 mg/100 g).

Kata kunci: Fermentasi, kulit singkong (*Manihot esculenta*), *Lactobacillus casei*, HCN, serat kasar, protein

The Effect of Lactid Acid (*Lactobacillus casei*) Concentration and Fermentation Time of The Chemical Charracter of Fermented Cassava (*Manihot esculenta*) Peel Flour

Faizatul Amanah, Liliek Harienie, Mujahidin Ahmad

ABSTRACT

Cassava peel is a food crop and industrial waste that can be still has many benefits and can be used as a food product. Cassava peels can be processed into food products with high economic value by processing them into cassava skin chips and fermented flour. Ferkusi Flour is fermented cassava peel flour that utilizes lactic acid bacteria. The use of lactic acid bacteria for the fermentation process resulted in a better product from the protein produced as well as decreased levels of cyanide and crude fiber. One of Lactic acid bacteria that have probiotic activity is *Lactobacillus casei*. The purpose of this study was to determine the effect of fermentation time and the concentration of *Lactobacillus casei* on the chemical characteristics of cassava peel flour (*Manihot esculenta*). This research is a purely experimental research using factorial Completely Randomized Design (CRD) method using two factors. The factor A is the concentration of *Lactobacillus casei* which consists of A0 (control), A1 (2% concentration), A2 (4% concentration), and A3 (6% concentration). Whereas, factor B is the duration of fermentation of cassava peel flour, which consists of B1 (storage time 24 hours), B2 (storage time 72 hours), and B3 (storage time 120 hours). The parameters observed in this study were crude fiber content, protein content, cyanide acid (HCN) and prebiotic test (total LAB). Lactic acid bacteria concentration of *L. casei* and fermentation time affected the physico-chemical character of cassava peel flour (*M. esculenta*) based on cyanide acid content, crude fiber, and protein. The concentration of *L. casei* 6% and fermentation time of 120 hours showed the most optimal results in influencing the physico-chemical character of cassava peel flour (*M. esculenta*) as indicated by a decrease in cyanide acid levels (48.9 mg / kg to 7.3 mg / kg) and crude fiber (22.058% to 10.601%), as well as an increase in total protein (8.09 mg / 100 g to 14.25 mg / 100 g).

Keyword: Ferkusi flour, Fermentation, *Lactobacilus casei*, Cassave (*Manihot utilisima*), HCN, crude fiber, protein.

تأثير تركيز بكتيريا حمض اللاكتيك في *Lactobacillus casei* والتخمير الطويل على الخصائص الكيميائية لدقيق لحاء الكسافا (*Manihot esculenta*) مخمر

فايزة الأمانة ، ليليك حربي ، مجاهدون أحمد

مستخلص البحث

الجلد الكاسافة هي واحدة من النفايات من المحاصيل الغذائية والصناعات التي يمكن استخدامها. ويمكن أن يتم تجهيز الجلد الكاسافة في المنتجات الغذائية ذات القيمة الاقتصادية العالية، من بين أمور أخرى من خلال معالجتها في رقائق الجلد الكاسافة ودقيق الموكاف. أحد طرق لتعديل دقيق الجلد الكاسافة تكون دقيق الموكاف هو عن طريق التخمير. كما أدى استخدام بكتيريا حمض اللاكتيك لعملية تصنيع الموكاف منتجات أفضل من ناتجة بروتينات وكذلك انخفاض مستويات السيانيد والألياف الخشنة. بكتيريا حمض اللاكتيك التي يعتقد أن لها نشاط بروبيوتيك هي *Lactobacillus casei*. *Lactobacillus casei* لديها القدرة على تحلل النشا إلى السكريات البسيطة، والبروتينات المتدهورة والبيبتيدات في الأحماض الأمينية بحيث يتم استخدامه في هذا البحث. وكان الغرض من هذا البحث لمعرفة تأثير تركيز بكتيريا حمض اللاكتيك *Lactobacillus casei* ووقت التخمير على الخصائص الفيزيائية والكيميائية لطحين بشرة الكاسافة (*Manihot esculenta*) المخمرة وتحديد تركيز ومدة التخمير التي تؤثر أكثر أمثل على الخصائص الفيزيائية والكيميائية لخصائص طحين جلد الكاسافة (*Manihot esculenta*) المخمرة. هذا البحث هو بحث تجريبية بحتة تستخدم طريقة تصميم عشوائية كاملة (RAL) مضروب باستخدام عاملين. العامل A هو تركيز *Lactobacillus casei* تتكون من A0 (السيطرة)، A1 (تركيز 2%)، A2 (تركيز 4%)، و A3 (تركيز 6%). في حين أن العامل B هو طول التخمير من طحين الجلد الكاسافة تتكون من B1 (24 ساعة طول التخزين)، B2 (72 ساعة طول التخزين)، و B3 (120 ساعة طول التخزين). الملاحظات التي لوحظت في هذا البحث هي محتوى الألياف، ومحتوى البروتين، وحمض السيانيد (HCN) واختبار البريبايوتيك (إجمالي مستوى BAL). تركيز بكتيريا حمض اللاكتيك *L. casei* والتخمير الطويل تؤثر على الخصائص الفيزيائية والكيميائية من دقيق جلد الكاسافة (*M. esculenta*) على أساس مستويات حمض السيانيد، ألياف الخشنة، والبروتينات.

تركيز *L. casei* من 6% ومدة التخمير من 120 ساعة أظهرت أفضل النتائج في التأثير على الخصائص الفيزيائية والكيميائية من دقيق الجلد الكاسافة (*M. esculenta*) المشار إليها من قبل انخفاض مستويات حمض السيانيد (48.9 ملغم / كجم إلى 7.3 ملغم / كجم) والألياف الخشنة (22.058% إلى 10.601%). فضلا عن زيادة في مجموع البروتين (8.09 ملغم / 100 غرام إلى 14.25 ملغم / 100 غرام).

الكلمات الرئيسية: حمض السيانيد، جلد الكاسافة، *Lactobacillus casei*، البروتين، الألياف الخشنة.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis hanturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan Skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah Ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi.
4. Ir. Liliek Harianie AR, M.P selaku Pembimbing utama , terimakasih telah membimbing dengan sabar, memberikan banyak masukan dan semangat, serta kritik dan saran yang membangun sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Mujahiddin Ahmad, M.Sc M.A selaku pembimbing agama yang telah banyak memberikan masukan, saran, serta bimbingan sehingga menuntun penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan Prilya Dewi Fitriasari selaku dosen penguji yang telah memberi ilmu, kritik, dan saran sehingga membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.
7. Abi Nur Rohim (my beloved father and first love), terimakasih atas semangat, dukungan, masukan, saran, serta Do'a yang tak pernah putus. Terimakasih atas kepercayaan yang diberikan kepada penulis serta petuah-petuah dan ceritanya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

8. Umi Nur Hayati, terimakasih atas kesabaran, masukan, kritik, saran serta Do'a yang tak pernah putus. terimakasih telah memberikan banyak pelajaran berharga dan menjadi ibu yang tegar bagi penulis.
9. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu. Penulis dengan sangat tulus mengucapkan terimakasih.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bias memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 25 Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Masalah.....	8
1.4 Hipotesis	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	9
BAB II TIJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Singkong (<i>Manihot esculenta</i>).....	11
2.1.2 Manfaat dan Kegunaan Singkong (<i>Manihot esculenta</i>).....	14
2.2 Limbah	17
2.3 Kandungan Pada Limbah Kulit Singkong	20
2.4 Bakteri Asam Laktat (BAL).....	25
2.4.1 Bakteri <i>Lactobacillus casei</i>	30
2.5 Fermentasi.....	32

2.5.1	Bagian-bagian Komponen dari Proses Fermentasi	42
2.5.2	Mekanisme Fermentasi	42
2.5.3	Pertumbuhan Mikroorganisme dalam Proses Fermentasi	44
2.6	Tepung Kulit Singkong Terfermentasi	45
2.6.1	Keunggulan Tepung Kulit Singkong	48
2.6.2	Pembuatan Tepung Kulit Singkong	50
2.6.3	Aktivitas <i>L. casei</i> terhadap Kadar HCN, Serat Kasar, dan Protein.....	51
BAB III METODE PENELITIAN		54
3.1	Rancangan Penelitian.....	54
3.2	Variabel Penelitian.....	56
3.2.1	Variabel Bebas	56
3.2.2	Variabel Terikat	56
3.3	Waktu dan Tempat	57
3.4	Alat dan Bahan.....	57
3.4.1	Alat.....	57
3.4.2	Bahan	57
3.5	Prosedur Penelitian	58
3.5.1	Sterilisasi Alat	58
3.5.2	Pembuatan Media.....	58
3.5.3	Pembuatan Tepung Kulit Singkong Terfermentasi.....	59
3.6	Analisis Tepung Kulit Singkong Terfermentasi	60
3.6.1	Analisis Kadar Asam Sianida (HCN)	60
3.6.2	Analisis Kadar Serat Kasar	61
3.6.3	Analisis Kadar Protein	62
3.7	Analisis Data.....	63
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		65
4.1	Uji TPC (<i>Total Plate Count</i>) Bakteri Asam Laktat.....	65
4.2	Pengaruh Konsentrasi <i>Lactobacillus casei</i> dan Lama Waktu Fermentasi Yang Bervariasi Terhadap Kadar HCN Tepung Kulit Singkong Terfermentasi	66
4.3	Pengaruh Konsentrasi <i>Lactobacillus casei</i> dan Lama Waktu Fermentasi Yang Bervariasi Terhadap Kadar Serat Kasar Tepung Kulit Singkong Terfermentasi	70

- 4.4 Pengaruh Konsentrasi *Lactobacillus casei* dan Lama Waktu Fermentasi yang Bervariasi terhadap Kadar Protein Tepung Kulit Singkong Terfermentasi 72

BAB V PENUTUP.....	78
5.1 Kesimpulan	78
5.2 Saran	78
DAFTAR PUSTAKA.....	79
LAMPIRAN.....	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2. 1	Skema dari proses fermentasi (Standbury dan Whitaker, 1984).....	42
2. 2	Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme.....	44
4. 1	Pengaruh konsentrasi <i>L. casei</i> dan waktu fermentasi terhadap kadar serat kasar tepung kulit singkong terfermentasi.....	70
4. 2	Pengaruh konsentrasi <i>L. casei</i> dan waktu fermentasi terhadap kadar asam sianida tepung kulit singkong terfermentasi.....	66
4. 3	Pengaruh konsentrasi <i>L. casei</i> dan waktu fermentasi terhadap kadar protein tepung kulit singkong terfermentasi. Ket: Notasi huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata kadar protein antar perlakuan.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1	Kandungan Gizi dalam tiap 100 g Daun Muda (Pucuk) dan Ubi Kayu	16
2.2	Persentase Kandungan Kimia Kulit Singkong	21
2.3	Perbedaan komposisi kimia Ferkusi dengan tepung singkong	48
2.4	Perbedaan sifat organoleptik Ferkusi dengan tepung singkong	48
3.1	Kombinasi perlakuan antar konsentrasi dan lama fermentasi.....	54
4.1	Hasil Total Plate Count Bakteri Asam Laktat.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Hasil Uji Asam Sianida (HCN)	86
2 Hasil Uji Serat Kasar	86
3 Hasil Uji Protein	87
4 Perhitungan	87
5 Hasil SPSS Uji Asam Sianida (HCN).....	89
6 Hasil Uji SPSS Serat Kasar	91
7 Hasil SPSS Uji Protein	93

DAFTAR SINGKATAN

SCFA	Short Chain Fatty Acids
BAL	Bakteri asam laktat
HCN	Hydrogen Cyanide
SNI	Standar Nasional Indonesia
FERKUSI	Modified Cassava Flour
PST	Protein Sel-Tunggal
RAL	Rancangan Acak Lengkap
LAF	Laminar Air Flow
MRS	De Man Rogossa Sharpe
MRSA	De Man Rogossa Sharpe Agar
KCN	Kalium Cyanide
Ppm	Part per-milion
TPC	Total Plate Count
CFU	Colony Forming Unit

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup yang menempati bumi. Tumbuhan dengan keanekaragaman hayati yang selalu ada di sekitar kita, baik itu yang tumbuh secara liar maupun yang sengaja dijadikan sebagai tanaman budidaya. Banyak tumbuhan yang berguna dan memberikan manfaat pada kehidupan makhluk hidup lainnya seperti manusia dan hewan dalam berbagai cara. Di dalam Al-Qur'an, Allah telah menganjurkan manusia supaya memperhatikan akan keberagaman tumbuhan dan merenungkan ciptaan-Nya. Dalam firman Allah SWT Surat As-Syu'ara (26):7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhan baik ?”

Shihab (2002), menjelaskan bahwa hendaknya manusia memperhatikan bahwa Allah telah menumbuhkan beraneka jenis tumbuhan yang subur dan bermanfaat. Sedangkan dalam Al-Jazairi (2008), tumbuhan baik yang dimaksud adalah yang tumbuh pada tanah yang baik dan dapat dimanfaatkan.

Hal tersebut yang juga dijelaskan oleh Al Qurthubi (2009) yang mana kata كَرِيمٌ berarti mulia. Asal kata *Al-Karam* dalam bahasa arab adalah *Al-Fadhl* (keutamaan). Contoh untuk penggunaan kata ini pada tumbuhan adalah *Nakhlah Karimah* yang artinya kurma yang unggul dan banyak buahnya. Dalam hal ini berarti makna *Karim* digunakan untuk mensifati tumbuhan dengan sifat yang baik

atau lebih unggul. Kata tersebut menunjukkan pada kata **أَنْبَتْنَا** yang berarti menumbuhkan tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang dapat tumbuh subur dan bermanfaat. Hal tersebut menunjukkan bahwa Allah Maha Kuasa atas alam semesta, dengan menumbuhkan tumbuhan yang baik atau bermanfaat bagi manusia maupun hewan. Salah satu tanaman yang memiliki manfaat adalah singkong (*Manihot esculenta*).

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan tanaman perdu penghasil umbi yang memiliki daya tahan tinggi terhadap berbagai jenis kondisi pH tanah, sehingga menjadikan tanaman singkong dapat tumbuh dengan baik sepanjang tahun (Purwono, 2009). Masyarakat Indonesia, menjadikan singkong sebagai bahan pangan pokok setelah beras dan jagung. Daun singkong umumnya dimanfaatkan sebagai sayuran. Selain itu, kulit singkong yang merupakan bagian kulit terluar umbi singkong biasanya hanya dijadikan sebagai bahan pakan ternak. Hampir keseluruhan bagian dari tanaman singkong dapat digunakan (Ntelok, 2017).

Produksi singkong di Indonesia pada tahun 2015 mencapai 21.801.415 ton. Penggunaan singkong di Indonesia dapat mencapai sebanyak 18,9 juta ton per tahun . Produksi singkong di Provinsi Jawa Timur pada tahun 2016 mencapai 3.161.573 dan pada tahun 2017 produksi singkong mencapai 3.919.854 ton (BPS, 2017). Akibat melonjaknya nilai produksi singkong tiap tahunnya, maka secara otomatis limbah kulit singkong juga akan meningkat.

Kulit singkong merupakan salah satu limbah tanaman pangan dan industri yang dapat dimanfaatkan. Pengolahan singkong akan menghasilkan limbah yang jumlahnya cukup besar. Prosentase jumlah limbah kulit bagian luar (*periderm*)

yang berwarna coklat sebesar 0,5 sampai 2% dari berat total singkong segar dan limbah kulit bagian dalam (*cortex*) yang berwarna putih sebesar 8 sampai 19,5% (Hikmiyanti, 2009). Adanya upaya pemanfaatan limbah berupa kulit singkong menjadi produk pangan dapat mengurangi jumlah limbah pada industri berbahan baku singkong. Menurut Desrosier (1987) menyatakan bahwa pemanfaatan limbah pengolahan merupakan salah satu upaya dalam mendukung zero waste.

Kulit singkong juga dapat menjadi produk pangan yang bernilai ekonomis tinggi, antara lain dengan diolah menjadi kripik kulit singkong dan tepung ferkusi. Tepung ferkusi merupakan tepung berbahan baku singkong yang dimodifikasi dengan teknik fermentasi menggunakan mikrobia (Rahayu, 2010). Mikrobia yang tumbuh menyebabkan perubahan karakteristik dari tepung yang dihasilkan berupa naiknya viskositas, kemampuan gelatinisasi, daya rehidrasi dan kemudahan melarut. Kualitas pada tepung ferkusi dapat dilihat dari parameter tepung, kaya karbohidrat, tekstur, cita rasa dan tingkat keputihan tepungnya lebih unggul dibandingkan tepung terigu (Adam, 2000).

Pratiwi (2013) mengemukakan bahwa kandungan karbohidrat, protein dan serat kasar pada kulit singkong relatif tinggi dan dapat digunakan sebagai sumber energi bagi hewan ternak.. Chisenga *et al.*, (2019), Nilai kandungan energi dan nutrisi kulit singkong dalam 100 gram kulit singkong adalah sebagai berikut: protein (8,11 gram), lemak (1,29 gram), serat kasar (15,20 gram), pektin (0,22 gram) dan kalsium (0,63 gram). Hasil analisa awal kulit singkong yaitu mengandung 36,5% pati atau amilum (Rukmana, 1997).

Kekurangan kulit singkong adalah tingginya kandungan serat kasar yakni sebesar 21 sampai 34%. Serat kasar terdiri dari senyawa selulosa, hemiselulosa

dan lignin yang tidak dapat dicerna oleh manusia (Prawitasari dan Estiningdriati, 2012). Pada bahan makanan, hasil yang diharapkan adalah kandungan serat kasar rendah agar memudahkan pencernaan serta memkasimalkan nilai gizi lainnya. Kulit singkong juga memiliki kandungan racun alami pada bahan tersebut (singkong) yang biasa disebut HCN (Asam Sianida) yang bersifat toksik (Fitriani, 2012). Kulit singkong memiliki kandungan HCN yang sangat tinggi yaitu sebesar 150 sampai 360 mg HCN per berat segar (Richana, 2013). Kadar asam sianida pada kulit singkong dapat mencapai 5 sampai 10 kali lebih besar daripada umbinya (Rustandi, 2012). Kadar asam sianida (HCN) dalam kulit singkong dapat diturunkan selama kulit singkong diproses terlebih dahulu agar pemanfaatan kulit singkong dapat lebih optimal, yakni dengan proses pencucian, perendaman, pengeringan, pemanasan dan fermentasi (Adamafio, 2010). Selain itu, total protein kulit singkong juga cenderung lebih rendah dibandingkan dengan umbi singkong sehingga diperlukan upaya peningkatan kadar protein (Subagio, *et al.*, 2008).

Salah satu cara memodifikasi tepung kulit singkong menjadi tepung ferkusi (*fermentasi kulit singkong*) adalah dengan cara fermentasi (Subagio, 2008). Tepung ferkusi diproses menggunakan prinsip memodifikasi sel singkong secara fermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat serta mempunyai efek menguntungkan bagi tubuh manusia (Widodo, 2002).

Proses fermentasi dengan menggunakan bakteri asam laktat dapat memperbaiki tekstur tepung menjadi lebih baik sehingga dapat memperbaiki sensori produk, dapat menutupi atau menghilangkan aroma dan cita rasa

singkong. serta dapat menghancurkan serat kasar (selulosa) menjadi bertekstur lebih lembut (Salim, 2011). Penggunaan bakteri asam laktat untuk proses pembuatan ferkusi juga menghasilkan produk yang lebih baik dari protein yang dihasilkan maupun penurunan kadar sianida (Frediansyah, 2012). Untuk itu perlu diteliti lebih lanjut proses pembuatan ferkusi dengan bakteri asam laktat yang berbeda, sehingga dapat diketahui hasil ferkusi yang paling baik dengan penggunaan jenis bakteri asam laktat tersebut.

Lactobacillus casei merupakan bakteri penghasil asam laktat, diperoleh dengan fermentasi glukosa dan pembentukan laktat bersifat homofermentatif membentuk asam laktat murni hampir 85%, bakteri ini juga mampu memfermentasi ribose menjadi asam asetat dan laktat (Farinde, 2010). Shah (2001)

Bakteri probiotik seperti *L. casei* mampu hidup secara baik dalam medium alami yang menggunakan sayuran, rumput laut, biji-bijian dan umbi-umbian (Hye, 2002). Kombinasi proses fermentasi dengan penambahan starter *L. casei* memungkinkan proses fermentasi terjadi dalam waktu yang lebih singkat (Kusumaningrum, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Zacharof (2012) menunjukkan bahwa konstanta kecepatan pertumbuhan *L. casei* yaitu 0,16/jam sedangkan *Lactobacillus plantarum* 0,13/jam. Hal ini menunjukkan bahwa *L. casei* melakukan pembelahan sel per satuan waktu lebih banyak daripada *Lactobacillus plantarum*.

Selama proses fermentasi bakteri asam laktat (*L. casei*), memerlukan adanya nutrisi guna proses pertumbuhannya. Nutrisi tumbuh ini didapatkan dari pengraian substrat dalam kulit singkong. Serat kasar tersusun atas selulosan dan lingnin. *L.*

casei memiliki kemampuan memfermentasi selulosa menjadi senyawa SCFA (*Short Chain Fatty Acids*) (Kludsen, 1993 dalam Roberfroid, 1998). Serat kasar yang dihidrolisis menjadi asam laktat, asam lemak rantai pendek dan energi (Rahmawati, 2012).

Kemampuan *L. casei* dalam menurunkan kadar serat kasar telah dikonfirmasi oleh beberapa penelitian sebelumnya antara lain, oleh Zubaidah (2006) menunjukkan bahwa pengembangan pangan probiotik berbasis bekatul dengan penambahan starter bakteri asam laktat *L. casei* menunjukkan terjadi penurunan kadar serat kasar selama proses fermentasi. Menurut Karppinen (2003) menjelaskan bahwa penurunan kadar serat kasar diduga karena adanya pemanfaatan serat kasar oleh aktivitas bakteri asam laktat *L. casei* untuk metabolisme sel. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Retnowati (2010) yang menunjukkan bahwa kelarutan tepung singkong terfermentasi 6% oleh bakteri *L. casei* diperoleh hasil yang tinggi (0,38%) dengan perlakuan selama 72 jam.

Mengenai peningkatan protein pada tepung ferkusi setelah dilakukan fermentasi dengan bakteri asam laktat terutama *L. casei* juga telah dilaporkan oleh penelitian sebelumnya. Penelitian oleh Darmawan (2013) menunjukkan bahwa proses fermentasi tepung singkong menggunakan bakteri asam laktat *L. casei* sebanyak 5% dapat meningkatkan kadar protein tertinggi sebesar 3,68% dengan lama fermentasi 72 jam. Iswari (2016) menambahkan bahwa kadar protein tertinggi diperoleh pada perlakuan lama fermentasi selama 72 jam pada tepung singkong dengan menggunakan starter *L. casei* yaitu sebesar 1,938%. Menurut Buckle (1987) menjelaskan bahwa lama waktu fermentasi memberikan pengaruh

terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat. Selama proses fermentasi berlangsung, jumlah bakteri asam laktat meningkat yang diikuti dengan penurunan pH.

Kadar HCN pada tepung ferkusi diharapkan mengalami penurunan setelah fermentasi. Disebutkan dalam Seveline (2018) bahwa proses fermentasi dapat menurunkan kadar HCN pada fermentasi selama 72 jam dengan perlakuan perendaman menggunakan *L. casei* yakni sebesar 13,98%. Semakin lama fermentasi maka semakin rendah kadar HCN dari tepung ferkusi diduga karena pada proses pembuatan tepung ferkusi terdapat proses pencucian, perendaman (fermentasi) dan pemanasan. Hal ini didukung oleh Sarinah (2010) menyatakan bahwa asam sianida bersifat mudah menguap di udara, terutama pada suhu di atas 25⁰C, karena sifat asam sianida yang mudah larut dalam air.

Banyak penelitian yang mengungkapkan bahwa tepung ferkusi memiliki karakteristik yang hampir sama dengan tepung terigu (Hidayat, 2009). Subagio (2008) memaparkan bahwa tepung ferkusi yang dihasilkan dapat digunakan untuk bahan dasar dalam membuat aneka produk pangan. Tepung kulit singkong terfermentasi diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti tepung terigu dalam beberapa produk olahan berbasis tepung. Berdasarkan pemaparan tersebut maka penting dilakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *L. casei* dan lama fermentasi terhadap karakteristik sifat kimiatepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka dalam penelitian ini dapat dibuat suatu rumusan masalah yakni:

1. Adakah pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* dan lama fermentasi terhadap karakteristik sifat kimia tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi ?
2. Pada konsentrasi dan lama fermentasi berapakah yang paling optimal mempengaruhi karakteristik sifat kimia tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi ?

1.3 Tujuan Masalah

Tujuan dari penelitian ini berdasarkan rumusan masalah di atas adalah:

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* dan lama fermentasi terhadap karakteristik sifat kimia tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi.
2. Menentukan konsentrasi dan lama fermentasi yang paling optimal mempengaruhi karakteristik sifat kimia tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil dalam penelitian ini berdasarkan tujuan di atas adalah:

1. Ada pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* dan lama fermentasi terhadap karakteristik sifat kimia tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi.
2. Pada konsentrasi 6% dan lama fermentasi 120 jam yang paling optimal mempengaruhi karakteristik sifat kimia tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberi beberapa manfaat yaitu:

1. Memberi informasi ilmiah mengenai cara pemanfaatan limbah kulit singkong (*Manihot esculenta*) menjadi suatu produk olahan alternatif yang lebih berguna dan mempunyai nilai ekonomi yang tinggi.
2. Mengurangi produksi limbah kulit singkong (*Manihot esculenta*) sebagai sampah organik yang berada disekitar kita untuk dijadikan tepung feruksi sebagai alternatif pengganti tepung terigu sehingga limbah tersebut memiliki nilai guna bagi masyarakat dan lingkungan.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian adalah:

1. Kulit singkong (*Manihot esculenta*) yang berwarna kuning diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI) Malang.
2. Kulit singkong (*Manihot esculenta*) yang digunakan adalah kulit bagian dalam yang berwarna putih.
3. Penelitian ini menggunakan starter bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus casei*.
4. Media tanam bakteri yang digunakan yaitu media MRSA (*de Man Rogossa Sharpe Agar*) dan media MRSB (*de Man Rogossa Sharpe Broth*).
5. Konsentrasi penambahan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* yang digunakan: 0%, 2%, 4% dan 6%.
6. Lama fermentasi yang dilakukan yakni selama: 24 jam, 72 jam dan 120 jam.

7. Parameter karakteristik yang diamati dalam penelitian ini terdiri dari kadar asam sianida (HCN), kadar protein, dan kadar serat kasar.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Singkong (*Manihot esculenta*)

Dalam Al-Qur'an Surat Al-Hijr (15) ayat 20, Allah berfirman:

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya: “Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezeki kepadanya.” (QS: Al-Hijr: 20).

Kalimat *وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعَايِشَ* dengan arti “Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup” menerangkan bahwa Allah-lah yang telah menjadikan keperluan-keperluan hidup bagi manusia. Kata *مَنْ* dalam kalimat *وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ* merujuk pada semua makhluk baik yang berakal maupun tidak berakal bahwa Allah lah yang memberi rezeki (Al-Qurthubi, 2008). Allah SWT telah memberikan rezeki yang tidak terhingga kepada manusia, yaitu Dia telah menciptakan bermacam-macam keperluan bagi manusia. Dia telah menciptakan tanah yang subur dan dapat ditanami dengan tanaman-tanaman yang berguna dan merupakan kebutuhan pokok baginya. Salah satu tanaman yang dapat tumbuh di tanah yang subur serta memiliki banyak kegunaan sebagai bahan makanan pokok adalah tanaman singkong (*Manihot esculenta*).

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan tanaman yang berasal dari Brazil ini, sering disebut dengan ubi kayu atau ketela pohon. Penyebarannya hampir ke seluruh dunia, antara lain Afrika, Madagaskar, India dan Tiongkok. Menurut Rahmawati (2010) dalam Asro (2016) singkong diperkirakan masuk ke Indonesia pada tahun 1852. Singkong merupakan salah satu tanaman yang tersebar luas di Indonesia dan sudah banyak dibudidayakan di berbagai negara di dunia. Di

Indonesia hasilnya melimpah ruah, sehingga tanpa disadari Indonesia merupakan negara kedua terbesar di dunia sebagai penghasil singkong (Gardjito dkk., 2013).

2.1.1 Klasifikasi Singkong

Sistematika (taksonomi) tanaman singkong menurut Steenis (2003) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Sub divisio : Angiosperma

Classis : Dicotyledoneae

Sub classis : Apetalae (Monoclamydeae)

Ordo : Euphorbiales

Famili : Euphorbiaceae

Sub famili : Crotonoideae

Tribe : Manihoteae

Genus : Manihot

Spesies : *Manihot esculenta* Crantz atau *Manihot utilissima*

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan tanaman perdu yang mudah tumbuh di daerah tropis dengan cara stek. Singkong memiliki ciri-ciri berbatang bulat dan bergerigi yang terbentuk dari bekas pangkal tangkai daun. Tanaman singkong ketinggiannya mencapai 3 cm atau lebih. Warna batang bervariasi, tergantung kulit luar, tetapi batang yang masih muda pada umumnya berwarna hijau dan setelah tua berubah menjadi keputih-putihan, kelabu, lunak dan strukturnya empuk seperti gabus (Rukmana, 2007).

Umbi yang terbentuk merupakan akar yang berubah bentuk dan fungsinya sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan. Bentuk umbi biasanya bulat

memanjang, daging umbi mengandung zat pati, berwarna putih atau kekuning-kuningan, dan tiap tanaman dapat menghasilkan 5-10 umbi. Umbi singkong tidak tahan lama dan mudah rusak meskipun ditempatkan di lemari pendingin. Gejala kerusakan ditandai dengan keluarnya warna biru gelap akibat terbentuknya asam sianida yang bersifat racun bagi manusia. Berbagai macam upaya penanganan singkong yang telah banyak dilakukan adalah dengan mengolahnya menjadi berbagai macam produk olahan, baik basah maupun kering (Prabawati, 2011).

Daun singkong tumbuh disepanjang batang dengan tangkai yang agak panjang dan helaian daunnya menyerupai telapak tangan. Tiap tangkai mempunyai daun sekitar 3 hingga 8 lembar. Daunnya mudah gugur dan yang berdaun biasanya hanyalah batang bagian atas dekat pucuk. Tangkai daun tersebut berwarna kuning, hijau atau merah. Singkong merupakan tanaman yang pemeliharaannya mudah dan produktif (Salim, 2011).

Tanaman singkong merupakan tanaman tahunan yang dapat dipanen 6-12 bulan setelah ditanam. Sifat singkong yang mudah dan mampu berproduksi tinggi, sekalipun ditanam di tanah kritis. Tanah yang paling sesuai untuk singkong adalah tanah yang berstruktur remah, gembur, tidak terlalu liat dan tidak terlalu poros serta kaya bahan organik. Tanah dengan struktur remah mempunyai tata udara yang baik, unsur hara lebih mudah tersedia dan mudah diolah. Untuk pertumbuhan tanaman singkong yang lebih baik, tanah dangkal dan padat mempengaruhi bentuk dan ukuran umbi (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).

Singkong (*Manihot esculenta*) dikenal sebagai makanan pokok yang berguna sebagai salah satu sumber karbohidrat lokal Indonesia yang menduduki

urutan ketiga terbesar setelah padi dan jagung. Tanaman tersebut merupakan bahan baku yang paling potensial untuk diolah menjadi tepung. Singkong merupakan sumber karbohidrat dan serat pakan, namun sedikit kandungan proteinnya. Singkong segar mengandung senyawa glikosida sianogenik dan bila terjadi proses oksidasi oleh enzim linamarase maka akan dihasilkan glukosa dan asam sianida (HCN) yang ditandai dengan bercak warna biru, akan menjadi toksik (racun) bila dikonsumsi pada kadar HCN lebih dari 50 ppm (Prabawati, 2011).

2.1.2 Manfaat dan Kegunaan Singkong (*Manihot esculenta*)

Singkong (*Manihot esculenta*) mempunyai potensi manfaat yang sangat tinggi. Keseluruhan tanaman singkong ini hampir semua bagian dapat dimanfaatkan dalam berbagai jenis industri. Misalnya, dalam industri pembuatan alkohol, etanol, dan industri kimia. Singkong juga bermanfaat untuk dijadikan sebagai bahan baku dalam industri makanan, baik berupa produk antara (*intermediate produc*), misalnya gaplek dan tepung tapioka, maupun makanan jadi berupa kripik, emping dan biskuit. Di Indonesia, singkong menjadi bahan pangan pokok setelah beras dan jagung. Limbah industri singkong sebagian hasil ikutan (*by product*) dalam pengolahan, yang berupa kulit singkong dan onggok, dapat dijadikan sebagai campuran pakan ternak. Aneka olahan dari tanaman singkong antara lain adalah sebagai berikut (Rukmana, 2001) :

a. Umbi

Hasil utama tanaman singkong adalah umbinya. Umbi singkong mengandung sedikit protein. Umbi singkong ini dimakan setelah dikukus, direbus, digoreng, dibakar, diolah menjadi berbagai macam panganan atau

diragikan menjadi tape. Dari gaplek dapat dibuat tiwul, gatot dan macam-macam panganan lainnya.

b. Daun Muda

Daun singkong biasanya dimanfaatkan sebagai bahan sayuran karena memiliki protein yang cukup tinggi. Daun singkong juga mengandung banyak carotene, sehingga merupakan sumber vitamin A yang baik. Daun singkong yang masih muda, sangat enak bila disantap dalam bentuk urap, lalap, masak, lotek, pepea, kare dan berbagai jenis masakan lainnya.

c. Batang

Batang singkong dapat digunakan sebagai pagar kebun atau digunakan sebagai kayu bakar untuk memasak. Batang singkong juga dimanfaatkan dalam pembuatan tauge atau rebung singkong.

d. Kulit Singkong

Kulit singkong dari varietas yang tidak beracun, dapat diolah menjadi keripik, tepung dan sebagai pakan ternak. Menurut Antari dan Umiyasih (2009), daun singkong dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak alternatif setelah mengalami pengolahan untuk mendetoksifikasi senyawa antinutrisi.

2.1.3 Kandungan Gizi Yang Terdapat Dalam Singkong

Tanaman singkong (*Manihot esculenta*) memiliki nilai gizi yang cukup tinggi dengan komposisi yang lengkap, mampu menyediakan energi dalam jumlah yang cukup tinggi dan kandungan gizinya berguna bagi kesehatan tubuh. Singkong merupakan salah satu bahan makanan sumber karbohidrat (sumber energi) dalam bentuk amilum dan mengandung kalori yang cukup tinggi. Umbi akar singkong banyak mengandung glukosa dan dapat dimakan mentah. Rasanya

sedikit manis, ada pula yang pahit tergantung pada kandungan racun glukosida yang dapat membentuk asam sianida (Suprapti, 2002).

Secara umum kandungan zat dalam tanaman singkong ialah karbohidrat, fosfor, kalsium, vitamin C, protein, zat besi dan vitamin B1. Namun, protein pada umbi singkong ini hanya sedikit, karena protein yang banyak terdapat pada daun singkong (Purwanti, 2016). Singkong mengandung komposisi kimia yang terdiri dari kadar air 60%, pati 35%, serat kasar 2,5%, kadar lemak 0,5% dan kadar abu 1% (Barrett dan Damardjati, 2015).

Umbi singkong yang telah dipanen tidak dapat bertahan lama karena adanya senyawa HCN yang menyebabkan dagingnya berwarna kehitaman. Senyawa glikosida sianogenik pada umbi singkong mengalami proses oksidasi oleh enzim *linamarase* maka akan dihasilkan glukosa dan asam sianida (HCN) yang ditandai dengan bercak warna biru, akan menjadi *toxic* (racun) bila dikonsumsi pada kadar HCN lebih dari 50 ppm (Barrett dan Darmadji, 2015). Singkong segar mengandung senyawa polifenol dan bila terjadi oksidasi akan menyebabkan warna coklat (browning secara enzimatis) oleh enzim fenolase, sehingga warna tepung kurang putih (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, 2011). Berikut merupakan kandungan zat gizi umbi singkong dicantumkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1Kandungan Gizi dalam tiap 100 g Daun Muda (Pucuk) dan Ubi Kayu

Kandungan Gizi	Singkong
Kalori (kal)	146,00
Protein (g)	1,20
Lemak (g)	0,30
Karbohidrat (g)	34,70
Kalsium (mg)	33,00

Fosfor (mg)	40,00
Zat Besi (mg)	0,70
Vitamin A (SI)	0,00
Vitamin B1 (mg)	0,06
Vitamin C (mg)	30,00
Air (g)	62,50
Bagian dapat dimakan (%)	75,00

Sumber: Direktorat Gizi, Depkes R.I, 1981 dalam (Rukmana, 2001).

Selain kandungan gizi di atas, singkong juga mengandung racun yang dalam jumlah besar, cukup berbahaya. Racun pada singkong yang selama ini kita kenal adalah asam biru atau asam sianida. Baik daun maupun umbinya mengandung suatu glikosa cyanogenik, artinya suatu ikatan organik yang dapat menghasilkan racun biru atau HCN yang bersifat sangat toksik (Sosrosoedirdjo, 1993).

Kandungan asam sianida dalam singkong sangat bervariasi. Kadar asam sianida rata-rata dalam singkong manis dibawah 50 mg/kg berat asal, sedangkan singkong pahit diatas 50 mg/kg. Menurut FAO, singkong dengan kadar 50 mg/kg masih aman untuk dikonsumsi manusia. Besarnya racun dalam singkong setiap varietas tidak konstan dan dapat berubah. Hal ini disebabkan adanya beberapa faktor yang mempengaruhi yaitu antara lain: keadaan iklim, keadaan tanah, cara pemupukan dan cara budidayanya (Winarno, 2004).

2.2 Limbah

Secara umum yang disebut limbah adalah buangan/bahan sisa yang dihasilkan dari suatu kegiatan dan proses produksi, baik pada skala rumah tangga (domestik) maupun industri. Kehadiran limbah pada suatu saat dan tempat tertentu tidak dikehendaki lingkungan karena tidak memiliki nilai ekonomis. Limbah bisa berupa padatan, cairan ataupun gas. Limbah atau sampah juga

merupakan bahan yang tidak berarti dan tidak berharga, tapi kita tidak mengetahui bahwa limbah juga bisa menjadi sesuatu yang berguna dan bermanfaat jika diproses secara baik dan benar. Limbah atau sampah juga bisa berarti sesuatu yang tidak berguna dan dibuang oleh kebanyakan orang, mereka menganggapnya sebagai sesuatu yang tidak berguna dan jika dibiarkan terlalu lama maka akan menyebabkan penyakit padahal dengan pengolahan sampah secara benar maka bisa menjadikan sampah ini menjadi benda ekonomis (Budiman et al., 1985).

Limbah adalah buangan dari suatu kegiatan yang dihasilkan dari suatu proses produksi, baik industri maupun domestik (rumah tangga). Menurut WHO, limbah adalah sesuatu yang tidak digunakan, tidak dipakai, tidak disenangi atau sesuatu yang dibuang berasal dari kegiatan manusia dan tidak terjadi dengan sendirinya. Banyak limbah organik masih mungkin digunakan kembali/pendaurulangan (repusing), walaupun akhirnya akan tetap merupakan bahan/material yang tidak dapat digunakan kembali (Dainur, 1995).

Hadiwiyoto (1983), mengelompokkan limbah berdasarkan beberapa faktor yaitu menurut bentuk dan sifatnya. Berdasarkan bentuknya, limbah dibedakan menjadi sampah padat, cair dan gas. Berdasarkan sifatnya, limbah dibedakan menjadi limbah yang mengandung senyawa organik (berasal dari tanaman, hewan dan mikroba) dan limbah anorganik yaitu garbage (bahan yang mudah membusuk) dan rubbish (bahan yang tidak mudah membusuk).

Allah menciptakan makhluk-Nya mempunyai fungsi dan tujuan, tidak satupun ciptaan-Nya yang sia-sia, termasuk kulit singkong (*Manihot esculenta*)

yang ditumbuhkan oleh Allah dengan banyak manfaat. Allah berfirman dalam surat Shaad ayat 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ذَلِكَ ظُنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٢٧﴾

Artinya: *“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir. Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka”* (QS. Shaad: 27).

Allah menciptakan segala sesuatu tidak sia-sia melainkan untuk sebuah perkara yang benar dan untuk membuktikan kekuasaannya (Al-Qurthubi, 2009; Al-Qarni, 2007). Dalam Shihab (2002), Ayat ini pada dasarnya jawaban bagi anggapan kaum kafir yang menafikan kehendak dan kekuasaan Allah. Semua diciptakan dengan tujuan yang jelas serta memiliki hikmahnya masing-masing. Allah telah menentukan bagi tiap makhluk mulai dari kehidupan hingga kematian termasuk surga dan neraka dan diatur sedemikian rupa untuk keseimbangan dan manfaatnya.

Berdasarkan ayat di atas, dapat disimpulkan bahwa Allah menciptakan makhluk-Nya diantara bumi dan langit tidak lah sia-sia, tetapi dengan hikmah yang nyata dan berguna bagi manusia apabila manusia memanfaatkan dengan sebaik-baiknya. Seperti halnya limbah pertanian yang dapat memberikan manfaat bagi kehidupan manusia. Limbah pertanian merupakan sayuran, kulit ubi dan buah yang terbuang baik disengaja maupun tidak disengaja untuk memperbaiki kualitas produk tersebut (Muwakhid, 2005).

Sayuran dan buah yang terbuang sebagai limbah dikumpulkan di titik tertentu untuk dijadikan kompos (Janakiram, 2011). Keberadaan limbah yang menumpuk

tersebut akan mencemari lingkungan jika tidak segera dibuang atau diolah kembali (Kayouli dan Lee, 2002). Limbah-limbah tersebut masih dapat dimanfaatkan kembali dengan menggunakan teknologi tradisional dan sederhana baik untuk kebutuhan manusia, hewan ternak, maupun untuk industri (Mastika, 2009). Kulit singkong sering kali dianggap limbah yang tidak berguna oleh sebagian industri berbahan baku singkong. Oleh karena itu, bahan ini masih belum banyak dimanfaatkan dan dibuang begitu saja, dan umumnya hanya digunakan sebagai pakan ternak. Dengan adanya upaya pemanfaatan limbah berupa kulit singkong menjadi produk pangan dapat mengurangi jumlah limbah pada industri berbahan baku singkong. Hal itu merupakan salah satu kelebihan dari kulit singkong, dan kekurangan kulit singkong adalah adanya kandungan racun alami pada bahan tersebut (singkong) yang biasa disebut HCN. Kulit singkong termasuk dalam kategori sampah organik, karena sampah ini dapat terdegradasi (membusuk atau hancur) secara alami (Suharyo, 2011).

Kulit singkong dapat menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi, antara lain diolah menjadi tepung ferfusi. Persentase kulit singkong kurang lebih 20% dari umbinya sehingga per kg umbi singkong menghasilkan 0,2 kg kulit singkong. Kulit singkong lebih banyak mengandung racun asam biru dibanding daging umbi yakni 3-5 kali lebih besar, tergantung rasanya yang manis atau pahit. Jika rasanya manis, kandungan asam birunya rendah sedangkan jika rasanya pahit, kandungan asam birunya lebih banyak (Salim, 2011).

2.3 Kandungan Pada Limbah Kulit Singkong

Nilai kandungan energi dan nutrisi kulit singkong dalam 100 gram kulit singkong adalah sebagai berikut: protein 8,11 gram; serat kasar 15,20 gram;

pektin 0,22 gram; lemak 1,29 gram dan kalsium 0,63 gram (Rukmana, 1997). Kandungan pati di dalam kulit singkong berkisar 44-59%. Komposisi kimia kulit singkong ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 2. 2 Persentase Kandungan Kimia Kulit Singkong

Komposisi Kimia	Kulit Singkong
Air	7,9 – 10,32%
Pati (starch)	44 – 59%
Protein	1,5 -3,7%
Lemak	0,8 – 2,1%
Abu	0,2 – 2,3%
Serat	17,5 – 27,4%
Ca	0,42 – 0,77%
Mg	0,12 – 0,24%
P	0,02 – 0,10%
HCN (ppm)	18,0 – 309,4 ppm

Sumber : Nur Richana (2013)

2.3.1 Asam Sianida

Kulit singkong memiliki kandungan HCN yang sangat tinggi yaitu sebesar 18,0-309,4 ppm untuk per 100 gram kulit singkong (Nur Richana, 2013). HCN atau asam sianida merupakan zat yang bersifat racun, baik dalam bentuk bebas maupun kimia, yaitu glikosida, sianogen phaseulonathin, linamarin dan metillinamarin/ lotaustrain (Coursey, 1973). Jumlah asam sianida (HCN) sangat bervariasi mulai dari dosis yang tidak berbahaya (<50 ppm) sampai yang mematikan (>250 ppm). Asam sianida ini mempunyai dosis ambang batas 0,5-3 mg/kg berat badan. Jika dikonsumsi terus-menerus dengan dosis ambang batas ini maka akan menimbulkan penyakit *tropical ataxic neuropathy* dengan gejala timbulnya lesi pada saraf mata dan pendengaran, meningkatkan kadar tiosianat dalam darah serta menyebabkan penyakit gondok. Namun, asam sianida ini mudah hilang selama kulit singkong diproses terlebih dahulu dengan cara perendaman, pengeringan, perebusan dan fermentasi.

Hidrogen sianida (HCN) berasal dari Glikosida sianogenetik yang terurai melalui reaksi dengan enzim linamarase. Glikosida sianogenetik merupakan senyawa yang terdapat dalam bahan makanan nabati dan secara potensial sangat beracun. HCN dikeluarkan bila komoditi tersebut dihancurkan, dikunyah, mengalami pengirisan atau rusak. Glikosida sianogenetik terdapat pada berbagai tanaman dengan nama senyawa yang berbeda seperti amigladin pada biji almonds, aprikot, apel, dhurin pada biji shorgum, linamarin pada kara (lima bean) dan ubi kayu (Winarno, 2004).

Zat glikosida ini diberi nama linamarin yang berasal dari aseton sianidrin yang bila dihidrolisis akan terurai menjadi glukosa, aseton dan HCN. Rumus molekul linamarin $C_{10}H_{17}O_6N$ dan mempunyai sifat yang mudah larut dalam air (Sosrosoedirdjo, 1993). Asam sianida disebut juga Hidrogen sianida (HCN), biasanya terdapat dalam bentuk gas atau larutan dan terdapat pula dalam bentuk garam-garam alkali seperti potasium sianida. Sifat-sifat HCN murni mempunyai sifat tidak berwarna, mudah menguap pada suhu kamar dan mempunyai bau khas. HCN mempunyai berat molekul yang ringan, sukar terionisasi, mudah berdifusi dan lekas diserap melalui paru-paru, saluran cerna dan kulit (Dep Kes RI, 1989).

HCN dikenal sebagai racun yang mematikan. HCN akan menyerang langsung dan menghambat sistem antar ruang sel, yaitu menghambat sistem *cytochrom oxidase* dalam sel-sel, hal ini menyebabkan zat pembakaran (oksigen) tidak dapat beredar ketiap-tiap jaringan sel-sel dalam tubuh. Dengan sistem keracunan ini maka menimbulkan tekanan dari alat-alat pernafasan yang menyebabkan kegagalan pernafasan, menghentikan pernafasan dan jika tidak tertolong akan menyebabkan kematian. Bila dicerna, HCN sangat cepat diserap

oleh alat pencernaan masuk ke dalam saluran darah. Tergantung jumlahnya HCN dapat menyebabkan sakit hingga kematian (dosis yang mematikan 0,5-3,5 mg HCN/kg berat badan) (Winarno, 2004).

Sianida sebagai hidrogen sianida, atau salah satu garamnya yang banyak digunakan dalam elektroplating, adalah racun yang bertindak sangat cepat (reaktif). Sianida tidak stabil dalam air dan dapat dihilangkan dengan perlakuan biologi atau dengan klorinasi. Hal ini mungkin terjadi dalam air hanya sebagai hasil dari tumpahan bahan kimia (Dean, 1981).

a) Sifat-Sifat HCN

Hidrogen sianida murni mempunyai sifat tidak berwarna, mudah menguap pada suhu kamar dan mempunyai bau yang khas. Hidrogen sianida mempunyai berat molekul yang ringan, sukar terionisasi, mudah berdifusi dan cepat diserap melalui paru-paru, saluran cerna dan kulit (Dep Kes RI, 1999).

b) Toksisitas HCN

Toksis (racun) dari suatu zat pada dasarnya merupakan kemampuan zat yang dapat menyebabkan kerusakan atau kerugian pada organisme hidup. Zat beracun alami yang terdapat pada bahan pangan nabati disebut toksitan nabati. Toksitan nabati pada tanaman berfungsi untuk membantu dan mengatur metabolisme serta melindungi tanaman terhadap serangan hama. Pelepasan HCN tergantung dari adanya enzim glikosidase serta adanya air. Senyawa HCN mudah menguap pada proses perebusan, pengukusan dan proses memasak lainnya (Dep Kes RI, 1999).

Glikosida sianogenik artinya suatu ikatan organik yang dapat menghasilkan racun biru/HCN yang bersifat sangat toksik. Zat glikosida dinamakan linamarin. Linamarin oleh enzim β glikosidase akan diuraikan menjadi HCN, benzaldehid

dan glukosa (Ahmad, 1998). Sifat-sifat murni HCN, yaitu mempunyai sifat tidak berwarna, mudah menguap pada suhu kamar dan mempunyai bau khas. HCN mempunyai berat molekul yang ringan, sukat terionisasi, mudah berdifusi dan cepat diserap melalui paru-paru, saluran cerna dan kulit. Dosis HCN yang dapat mengakibatkan kematian adalah 0,5-3,5 mg HCN/kg berat badan. Gejala yang timbul yakni mati rasa pada seluruh tubuh dan pusing-pusing. Hal ini diikuti oleh kecacauan mental dan pingsan, kejang-kejang dan akhirnya koma (pingsan lama) (Dep Kes RI, 1999).

c) Efek Racun HCN

HCN dalam bentuk gas maupun cairan sangat beracun dan dikenal sebagai racun yang mematikan. HCN akan menyerang langsung serta menghambat sistem antar ruang sel, yaitu menghambat sistem sitokrom oksidase dalam sel-sel, hal ini menyebabkan zat pembakaran (oksigen) tidak dapat beredar ke tiap-tiap jaringan sel-sel dalam tubuh. Dengan sistem keracunan itu, maka menimbulkan tekanan sistem pernafasan saraf pusat sehingga terjadilah kelumpuhan dari alat-alat pernafasan yang menyebabkan kegagalan pernafasan, menghentikan pernafasan dan jika tidak tertolong akan menyebabkan kematian. Dosis HCN yang dapat menyebabkan kematian adalah 0,5-3,5 mg HCN/kg berat badan (Winarno, 2004).

Ada beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mengurangi kandungan HCN yang terdapat dalam singkong, yaitu dengan cara perendaman, pencucian, perebusan, pengukusan, penggorengan atau pengolahan lain. Dengan adanya pengolahan, dimungkinkan dapat mengurangi kandungan kadar HCN sehingga bila singkong dikonsumsi tidak akan membahayakan bagi tubuh. Pengolahan

secara tradisional dapat mengurangi atau bahkan menghilangkan kandungan racun (Sumartono, 1987).

Mula-mula singkong, kulitnya dikupas sebelum diolah, direndam sebelum dimasak dan difermentasi selama beberapa hari. Dengan perlakuan tersebut linamarin banyak yang rusak dan hidrogen sianidanya ikut terbang keluar sehingga tinggal sekitar 10-40 mg/kg (Winarno, 2004). Asam biru (HCN) dapat larut di dalam air, maka untuk menghilangkan asam biru tersebut cara yang paling mudah adalah merendamnya di dalam air pada waktu tertentu (Kuncoro, 1993).

2.3.2 Serat Kasar

Serat kasar (15,20 gram), pektin (0,22 gram) dan kalsium (0,63 gram). Hasil analisa awal kulit singkong yaitu mengandung 36,5% pati atau amilum (Rukmana, 1997). Kulit singkong memiliki kandungan serat kasar yang tinggi yakni sebesar 21 sampai 34% (Prawitasari dan Estiningdriati, 2012), sedangkan menurut Rukmana (1997) sebesar 15,20 gram. Serat kasar terdiri dari senyawa selulosa, hemiselulosa dan lignin yang tidak dapat dicerna oleh manusia (Prawitasari dan Estiningdriati, 2012).

2.4 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Allah menciptakan alam seisinya sebagai rahmat untuk kemaslahatan umat manusia. Manusia berhak untuk memanfaatkan kekayaan alam semaksimal mungkin dalam rangka untuk meningkatkan kesejahteraan mereka serta sebagai bentuk rasa syukur atas nikmat yang telah diberikan oleh Allah SWT. Seperti yang disebutkan dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 29:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ ۗ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾

Artinya: *“Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit, dan Dia Maha Mengetahui Segala Sesuatu”* (QS. Al-Baqarah: 29).

Menurut tafsir Al-Jazair (2008) dalam tafsir Al-Aisar, berkaitan dengan ayat tersebut, kata *اسْتَوَى* memiliki arti berkehendak, yang berarti Allah berkehendak dalam menetapkan seluruh bumi dan isinya. Abu Ja'far dalam tafsir At-Thabari (2008) menambahkan bahwa segala yang ada muka bumi hingga terhampar diatas langit merupakan nikmat dan anugerah bagi kehidupan manusia. Dilanjutkan dengan kalimat *وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ* yang berarti bahwa Allah Maha mengetahui segala sesuatu. Ilmu Allah sangat luas, meliputi seluruh apa yang diciptakannya (Al-Jazair, 2008), tidak ada yang tersembunyi sedikitpun meski disembunyikan sebagaimana perilaku orang munafik (At-Thabari, 2008). Sedangkan menurut Tafsir Ibnu Katsir (2007), ayat tersebut menjelaskan bahwa atas kehendak Allah-lah segala sesuatu yang ada di bumi ini ada, mulai dari makanan, air, udara, obat, dan menjadikan hukum asalnya halal dan suci.

Berdasarkan ayat diatas diketahui bahwa alam semesta beserta isinya yang sangat kompleks ini diciptakan Allah SWT untuk manusia. Makhluk ciptaan-Nya tersebut terdiri dari berbagai macam jenis tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme

Bakteri adalah organisme uniseluler dan prokariot serta umumnya tidak memiliki klorofil dan berukuran renik (mikroskopis). Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan lebih tersebar luas dibandingkan

mahluk hidup yang lain. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat hingga lautan serta pada tempat-tempat yang ekstrim. Terdapat bakteri yang menguntungkan dan ada pula yang merugikan. Salah satu bakteri yang menguntungkan yaitu bakteri asam laktat (Warsito, 1995).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Bakteri yang tergolong dalam BAL memiliki beberapa karakteristik tertentu yang meliputi: tidak memiliki porfirin dan sitokrom, katalase negatif, tidak melakukan fosforilasi transpor elektron, dan hanya mendapatkan energi dari fosforilasi substrat. Hampir semua BAL hanya memperoleh energi dari metabolisme gula sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula atau bisa disebut dengan lingkungan yang kaya nutrisi. Kemampuan BAL untuk menghasilkan senyawa (biosintesis) juga terbatas dan kebutuhan nutrisi kompleks BAL meliputi asam amino, vitamin, purin dan pirimidin (Fardiaz, 1992).

Bakteri asam laktat merupakan jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi tubuh. Bakteri asam laktat diisolasi untuk menghasilkan antimikroba yang dapat digunakan sebagai probiotik. Manfaat bagi kesehatan yang berkaitan dengan bakteri asam laktat, diantaranya memperbaiki daya cerna laktosa, mengendalikan bakteri patogen dalam saluran pencernaan, penurunan serum kolesterol, menghambat tumor, antimutagenik dan antikarsinogenik, menstimulir sistem imun, pencegahan sembelit, produksi

vitamin B, produksi bakteriosin dan inaktivasi berbagai senyawa beracun (Bachrudin *et al.*, 2000).

Kelompok bakteri asam laktat menghasilkan sejumlah besar asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme gula (karbohidrat). Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Ini juga menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lainnya. Dua kelompok kecil mikroorganisme dikenal dari kelompok ini yaitu organisme-organisme yang bersifat *homofermentative* dan *heterofermentative* (Fardiaz, 1992).

Jenis-jenis homofermentatif yang terpenting hanya menghasilkan asam laktat dari metabolisme gula, sedangkan jenis-jenis heterofermentatif menghasilkan karbondioksida dan sedikit asam-asam volatil lainnya, alkohol dan ester disamping asam laktat. Beberapa jenis yang penting dalam kelompok ini menurut Sumanti (2008) antara lain:

1. *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus cremoris*.

Semuanya ini adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat (*coccus*) yang terdapat sebagai rantai dan semuanya mempunyai nilai ekonomis penting dalam industri susu.

2. *Pediococcus cerevisiae*. Bakteri ini adalah gram positif berbentuk bulat, khususnya terdapat berpasangan atau berempat (*tetrads*). Walaupun jenis ini tercatat sebagai perusak bir dan anggur, bakteri ini berperan penting dalam fermentasi daging dan sayuran.

3. *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc dextranicum*. Bakteri ini adalah gram positif berbentuk bulat yang terdapat secara berpasangan atau rantai pendek. Bakteri-bakteri ini berperan dalam perusakan larutan gula dengan produksi pertumbuhan dekstran berlendir. Walaupun demikian, bakteri-bakteri ini merupakan jenis yang penting dalam permulaan fermentasi sayuran dan juga ditemukan dalam sari buah, anggur, dan bahan pangan lainnya.
4. *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus casei*. Organisme-organisme ini adalah bakteri berbentuk batang, gram positif dan sering berbentuk pasangan dan rantai dari sel-selnya. Jenis ini umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam dari pada jenis-jenis *Pediococcus* atau *Streptococcus* dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada tahapan terakhir dari fermentasi tipe asam laktat. Bakteri-bakteri ini penting sekali dalam fermentasi susu dan sayuran.

Bakteri asam laktat memiliki kemampuan mengubah berbagai senyawa yang terdapat pada media menjadi senyawa yang lebih sederhana. Bakteri asam laktat juga aman untuk pengolahan produk pangan, tidak menghasilkan toksin, sehingga sering disebut sebagai mikroorganisme yang meningkatkan nilai makanan (food grade microorganism). Bakteri asam laktat memiliki fungsi sebagai agen yang dapat mengawetkan pangan karena menghasilkan senyawa antimikrobia berupa asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, bakteriosin, etanol dan potensial redoks yang rendah (Subagio dkk, 2008).

2.4.1 Bakteri *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei merupakan salah satu spesies dari jenis *Lactobacillus* yang banyak diteliti penggunaannya setelah *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus casei* memiliki karakteristik berbentuk basil atau cocobasil, genus bakteri gram-positif, berukuran 0,7–1,1 x 2,0–4,0 µm, anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik, tidak memiliki alat gerak, tidak menghasilkan spora, katalase negatif dan hasil fermentasi akhir berupa komponen asam laktat (homofermentatif) (Holzapfel et al., 1998). Klasifikasi *Lactobacillus casei* menurut Hansen dan Lessel (1971) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Lactobacillus
Family : Lactobacillaceae
Genus : Lactobacillus
Spesies : *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei akan merubah ribosa menjadi asam laktat dan asam asetat, perubahan ribosa diinduksi oleh faseketolase (Kurman, 1992). Bakteri probiotik *Lactobacillus casei* mampu hidup secara baik dalam medium alami yang menggunakan sayuran, biji-bijian dan umbi-umbian (Hye et al., 2002). *Lactobacillus casei* adalah bakteri yang bisa memecah protein, karbohidrat, dan lemak dalam makanan serta menolong penyerapan elemen penting dan nutrisi seperti mineral, asam amino dan vitamin yang dibutuhkan manusia dan hewan untuk bertahan hidup (Damika, 2006).

Lactobacillus casei merupakan bakteri yang penting dalam pembentukan asam laktat, karena bakteri ini dapat merubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat. Produksi asam laktatnya membuat lingkungannya bersifat asam dan mengganggu pertumbuhan beberapa bakteri merugikan. Dalam tubuh manusia, bakteri ini dapat ditemukan di dalam membran mukosa (rongga mulut, vagina dan sistem pencernaan), dimana mereka bersimbiosis dan merupakan sebagian kecil dari flora usus (Damika, 2006).

Lactobacillus casei hampir menyerupai dengan *Lactobacillus plantarum* yang mampu untuk beradaptasi secara baik pada habitat yang beragam (Smokvina et al., 2013). *Lactobacillus casei* toleran terhadap asam, tidak bisa mensintesis perfirin, dan melakukan fermentasi dengan asam laktat sebagai metabolit akhir yang utama. *Lactobacillus casei* memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim amilase, yaitu enzim yang digunakan untuk memecah amilum. Kecepatan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus casei* berkisar 50 Dornic atau 0,5% asam laktat setelah 48 jam. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus casei* dibawah suhu optimal (37⁰C), dan membutuhkan riboflavin, asam folat, kalsium pantotenat dan faktor pertumbuhan lain (Petrova et al., 2013).

Lactobacillus casei adalah galur unggul yang mudah dan cocok untuk dikembangbiakkan dalam minuman dasar susu. Selain bakteri ini mampu bertahan dari pengaruh asam lambung, juga mampu bertahan dalam cairan empedu sehingga mampu bertahan hidup hingga usus halus (Margawani, 1995). Dari segi industrial, *Lactobacillus casei* mempunyai peran dalam probiotik manusia, kultur starter pemroduksi asam untuk fermentasi susu dan kultur khas untuk intensifikasi serta akselerasi perkembangan rasa dalam varietas keju yang dibubuhi bakteri.

Beberapa produk fermentasi yang menggunakan *Lactobacillus casei* ternyata menghasilkan keberlangsungan hidup bakteri yang tinggi, contohnya adalah pada produk keju (Phillips et al., 2006) serta ketahanan terhadap pengeringan dengan suhu tinggi juga dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* (Gardiner et al., 2000).

2.5 Fermentasi

Segala macam bentuk makanan maupun minuman bagi makhluk hidup adalah suatu kebutuhan yang tidak bisa terpisah satu sama lain. Semuanya mengandung unsur karbohidrat, protein, vitamin dan mineral yang dibutuhkan secara seimbang sesuai dengan rancangan dan fungsi yang tepat. Tidak satu pun di dunia ini yang Dia ciptakan tanpa manfaat. Bahkan bakteri yang cenderung diasosiasikan sebagai penyebab penyakit, dalam keadaan tertentu beberapa spesies bakteri merupakan bagian penting dalam kehidupan manusia karena peranan bakteri ada yang menguntungkan dan merugikan. Oleh karena itu, tidak adanya kesia-siaan dalam ciptaan Allah SWT, maka sudah sepantasnya bagi manusia untuk berupaya memikirkan penciptaan Allah yaitu dengan melakukan observasi alam semesta sehingga diperoleh penemuan baru dalam pengkayaan ilmu yang selaras dengan Al-Qur'an (Shihab, 1999).

Pernyataan Shihab (1999) sesuai dengan firman Allah dalam surat Ali Imran ayat 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata):”ya Tuhan, tiadalah

Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka” (QS.Ali Imran:191).

Tafsir ayat diatas berdasarkan tafsir At-Thabari (2008) menjelaskan sebuah anjuran bagi manusia untuk selalu mengingat Allah dalam segala kondisinya melalui ciptaan-Nya. Hal ini tentu saja bukan hanya sekedar melihat, namun juga mengamati dari segi bentuk, proses, hingga manfaatnya. Dalam ayat tersebut, kalimat رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا “*tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia*” menjelaskan bahwa segala-sesuatu yang diciptakan Allah penuh dengan kebenaran, telah ditetapkan sedemikian rupa sehingga memiliki manfaat masing-masing (Tafsir Ibnu Katsir, 2006).

Manusia diperintahkan untuk menuntut ilmu agar mereka mempelajari segala yang telah Allah ciptakan. Pada masa yang serba canggih seperti saat ini, seiring dengan kemajuan teknologi manusia dapat mempelajari manfaat ciptaan Allah dengan mudah. Tidak terkecuali dalam bidang pengolahan bahan makanan agar manusia mendapatkan makanan yang bermanfaat bagi tubuh dalam bentuk yang beraneka ragam. Misalnya pemanfaatan berbagai bakteri menguntungkan atau bakteri asam laktat dalam pembuatan makanan maupun minuman probiotik dengan cara difermentasi.

Umumnya kata “fermentasi” diartikan untuk semua kegiatan yang menunjukkan pada berbagai aksi mikrobial. Dalam sitologi organisme tinggi, fermentasi berarti proses-proses biokimia yang karakteristiknya sama dengan fermentasi mikrobial (Said, 1987). Ahli biokimia mengartikan fermentasi sebagai suatu proses pembentukan energi melalui katabolisme senyawa organik. Sedangkan kalangan mikrobiologi industri mengartikan fermentasi sebagai proses

pemanfaatan mikroba untuk menghasilkan produk (Standbury dan Whitaker, 1984).

Pada mulanya, istilah fermentasi hanya digunakan untuk menunjukkan proses pembuatan anggur. Dalam proses tersebut dihasilkan gelembung-gelembung gas seperti adanya gelembung gas pada air yang mendidih. Sejalan dengan perkembangan ilmu kimia pada waktu itu, maka dapat diketahui bahwa pada fermentasi anggur terjadi pemurnian gula menjadi etanol dan CO₂ (Timotius, 1982).

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Fermentasi dalam pemrosesan bahan pangan adalah pengubahan karbohidrat menjadi alkohol dan karbondioksida atau asam amino organik menggunakan ragi, bakteri, fungi atau kombinasi dari ketiganya di bawah kondisi anaerobik. Perilaku mikroorganisme terhadap makanan dapat menghasilkan dampak positif maupun negatif, dan fermentasi makanan biasanya mengacu pada dampak positifnya (Rahman, 1989).

Fermentasi adalah suatu aktivitas mikroba baik aerob maupun anaerob untuk mendapatkan energi dimana terjadi perubahan atau transformasi kimiawi substrat organik (Rahman, 1989). Secara kimiawi, perubahan bahan pangan selama fermentasi disebabkan oleh enzim. Enzim dapat dihasilkan oleh mikroba atau sudah terdapat dalam bahan pangan. Sedangkan aplikasinya dalam dunia industri, fermentasi diartikan sebagai suatu proses untuk mengubah bahan dasar menjadi suatu produk oleh massa sel mikroba. Didalam pengertian ini, termasuk

juga proses anabolisme pembentukan komponen sel secara aerob (Wibowo, 1990).

Menurut Prescott dan Dunn (1959), fermentasi pada umumnya menggunakan senyawa organik berupa karbohidrat yang dapat digolongkan sebagai berikut:

- a) Bahan bergula, seperti tebu, molase, bit gula dan cairan buah-buahan.
- b) Bahan berpati, seperti jagung, singkong dan kentang.
- c) Bahan berselulosa, seperti kayu dan berbagai limbah industri pertanian.

Dalam fermentasi, bakteri asam laktat akan memfermentasikan bahan pangan untuk menghasilkan perubahan yang diinginkan dan yang terutama adalah terbentuknya asam laktat, dimana asam laktat akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Hal ini juga berakibat menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme patogen lainnya. Seperti telah disebutkan bahwa produk yang dihasilkan dari fermentasi bakteri asam laktat akan berbeda, tergantung pada jenis bakteri asam laktatnya apakah homofermentatif atau heterofermentatif (Daulay dan Rahman, 1992).

2.5.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi

Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan. Pada umumnya, cara-cara pengawetan pangan ditujukan untuk menghambat atau membunuh mikroba. Sebaliknya fermentasi adalah suatu cara pengawetan yang mempergunakan mikroba tertentu

untuk menghasilkan asam atau komponen lainnya yang dapat menghambat mikroba perusak lainnya (Winarno, 1980).

Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi *anaerob* atau partial *anaerobik* dari karbohidrat dan menghasilkan alkohol serta beberapa asam. Namun, banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak. Hasil dari fermentasi terutama tergantung pada berbagai faktor, yaitu jenis bahan pangan (substrat), macam mikroba dan kondisi sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. Mikroba yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunan-turunannya terutama menjadi alkohol, asam dan CO₂ (Muchtadi, 1989).

Mikroba proteolitik dapat memecah protein dan komponen-komponen nitrogen lainnya, sehingga menghasilkan bau busuk yang tidak diinginkan. Sedangkan mikroba lipolitik akan memecah atau menghidrolisa lemak, fosfolipida dan turunannya dengan menghasilkan bau yang tengik. Bila alkohol dan asam yang dihasilkan oleh mikroba fermentatif cukup tinggi, maka pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik dapat dihambat. Prinsip fermentasi sebenarnya adalah mengaktifkan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba pembentuk alkohol dan asam, serta menekan pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik (Winarno, 1980).

Beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi menurut Desroisier (1998), antara lain:

1. Mikroba

Fermentasi dilakukan dengan menggunakan kultur murni atau starter. Banyaknya mikroba (starter/inokulum) yang ditambahkan berkisar antara 3-10%

dari volume medium fermentasi. Penggunaan inokulum yang bervariasi ini dapat menyebabkan proses fermentasi dan mutu produk dapat selalu berubah-ubah. Inokulum adalah kultur mikroba yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi ketika kultur mikroba tersebut berada pada fase pertumbuhan eksponensial. Kriteria kultur mikroba agar dapat digunakan sebagai inokulum dalam proses fermentasi yaitu (Rachman, 1989) :

- a) Sehat dan berada dalam keadaan aktif, sehingga dapat mempersingkat fase adaptasi.
- b) Tersedia dalam jumlah yang cukup, sehingga dapat menghasilkan inokulum dalam takaran yang optimum.
- c) Berada dalam bentuk morfologi yang sesuai.
- d) Bebas dari kontaminasi.
- e) Dapat mempertahankan kemampuannya dalam membentuk produk.

2. Lama Fermentasi

Suatu sel mikroorganisme yang diinokulasikan dalam media nutrisi agar, pertumbuhannya yang mula-mula terlihat adalah suatu pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Pada saat ukurannya telah mencapai kira-kira dua kali dari besar sel normal, maka sel tersebut akan membelah dan menghasilkan dua sel. Sel-sel tersebut kemudian akan tumbuh dan membelah diri lagi, sehingga menghasilkan empat sel. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah dengan besar populasi sel terbentuk (Buckle, 1987).

Waktu antara masing-masing pembelahan sel berbeda-beda, tergantung dari spesies dan kondisi lingkungannya. Namun, untuk kebanyakan bakteri

membutuhkan waktu berkisar antara 10-60 menit. Tipe pertumbuhan yang cepat ini disebut pertumbuhan logaritmik atau eksponensial, karena apabila log jumlah sel digambarkan terhadap waktu dalam grafik akan menunjukkan garis lurus. Akan tetapi, pada kenyataannya tipe pertumbuhan eksponensial ini tidak langsung terjadi pada saat sel dipindahkan ke dalam medium pertumbuhan dan tidak terjadi secara terus-menerus (Rachman, 1989).

3. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) merupakan petunjuk aktivitas ion H dalam suatu larutan. Pada proses fermentasi, pH sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba, dan berhubungan erat dengan suhu. Pengukuran pH merupakan parameter yang mempengaruhi pertumbuhan dan pembentukan produk. Mikroba tertentu dapat tumbuh pada kisaran pH yang sesuai untuk pertumbuhannya. Sebagian besar organisme dapat berfungsi baik, dengan selang pH antara 3-4 unit pH. Biasanya bakteri dapat tumbuh pada pH 4-8, khamir biasanya lebih senang dalam pH 3-6 dan kapang dalam pH 3-7 (Desroisier, 1998).

Menurut Fardiaz (1989), jika suhu naik, maka pH optimum untuk pertumbuhan juga naik. Semakin lama waktu fermentasi maka pH akan semakin turun, hal ini disebabkan karena asam laktat yang dihasilkan semakin banyak (Miller, 1959). Penurunan pH merupakan salah satu akibat proses fermentasi yang terjadi karena adanya akumulasi asam laktat sebagai produk utama dari aktifitas bakteri *Lactobacillus casei* yang bersifat homofermentatif (Singleton, 1998).

4. Substrat (medium)

Substrat (medium) fermentasi adalah tempat pertumbuhan mikroorganisme/inokulum menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba

untuk memperoleh energi, untuk pertumbuhan, membentuk sel dan biosintesa produk-produk metabolit. Media yang tidak sesuai akan menyebabkan perubahan jenis produk dan perubahan rasio diantara berbagai produk metabolisme. Medium yang digunakan sebagai tempat terjadinya proses fermentasi harus mengandung komponen nutrisi yang lengkap sesuai dengan kebutuhan mikroba (Fardiaz, 2003).

Beberapa nutrisi merupakan faktor pembatas pada pertumbuhan mikroba. Faktor pembatas tersebut merupakan sejumlah nutrisi yang harus ada pada medium pertumbuhan dalam jumlah tertentu. Jika faktor pembatas kurang dari yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroba maka akan mengganggu proses metabolisme sel. Substrat yang biasa digunakan adalah berbahan dasar karbon. Oleh karena itu, banyak substrat berasal dari tumbuh-tumbuhan dan sedikit yang dari hewan (Said, 1998).

Rancang bangun medium nutrisi untuk pertumbuhan dan pembentukan produk merupakan langkah penentu dalam menjamin keberhasilan eksperimen atau pelaksanaan produksi. Konstituen kimiawi medium harus memenuhi semua kebutuhan elemen massa sel dan produk, dan harus dapat memasok energi secukupnya untuk sintesis dan pemeliharaan. Juga harus dicukupi nutrisi spesifik seperti vitamin dan mineral yang diperlukan sangat sedikit (Judoamidjojo, 1992).

Penggunaan medium fermentasi tergantung pada jenis mikroba dan produk yang ingin diperoleh, karena medium yang tidak sesuai dapat menyebabkan perubahan jenis produk selama proses tersebut berlangsung (Purwanti dalam Fardiaz, 2003). Mikroba unggul memerlukan nutrisi untuk tumbuh dan berkembang biak serta pembentukan produk. Nutrien ini berbentuk garam yang

larut dalam air. Senyawa-senyawa sumber karbon dan nitrogen merupakan komponen terpenting dalam medium fermentasi, karena sel-sel mikroba dan berbagai produk fermentasi sebagian besar terdiri dari unsur karbon dan nitrogen. Disamping itu, medium fermentasi juga mengandung air, garam-garam anorganik dan beberapa vitamin (Suharto, 1995).

5. Suhu

Setiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan maksimal, minimal dan optimal, yaitu suhu yang memberikan pertumbuhan terbaik dan perbanyak diri tercepat. Suhu akan berpengaruh terhadap ukuran sel, produk metabolik seperti pigmen dan toksin, kebutuhan zat gizi, reaksi enzimatik dan komposisi kimia sel (Gaman, 1992). Suhu yang digunakan selama fermentasi akan mempengaruhi mikroba yang berperan dalam proses fermentasi. Jika temperatur dinaikkan, maka hasil sel akan menurun karena media sebagian akan digunakan untuk mempertahankan hidup atau kebutuhan untuk mempertahankan diri meningkat (Judoamidjojo, 1992).

Bakteri bervariasi dalam hal suhu optimum untuk pertumbuhan dan pembentukan asam. Kebanyakan bakteri dalam kultur laktat mempunyai suhu optimum 30⁰C, namun beberapa kultur dapat juga membentuk asam dengan kecepatan yang sama pada suhu 37⁰C maupun suhu 30⁰C. Suhu yang lebih tinggi dari 40⁰C pada umumnya dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan dan pembentukan asam oleh bakteri asam laktat, kecuali kultur yang digunakan dalam pembuatan yoghurt yaitu *Lactobacillus* dan *Streptococcus thermophilus* memiliki suhu optimum 40-45⁰C (Rachman, 1992).

6. Oksigen

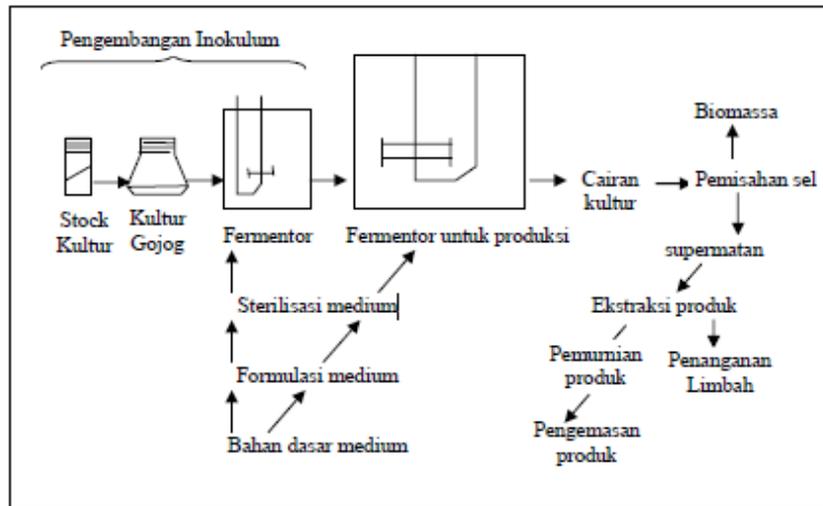
Pengaturan udara akan mempengaruhi populasi mikroba. Tersedianya oksigen dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Jamur bersifat aerobik (memerlukan oksigen) sedangkan khamir dapat bersifat aerobik atau pun anaerobik tergantung pada kondisinya. Bakteri diklasifikasikan menjadi empat kelompok yaitu aerob obligat (tumbuh jika persediaan oksigen banyak), aerob fakultatif (tumbuh jika oksigen cukup, juga dapat tumbuh secara anaerob), anaerob obligat (tumbuh jika tidak ada oksigen) dan anaerob fakultatif (tumbuh jika tidak ada oksigen juga dapat tumbuh secara aerob) (Gaman, 1992).

7. Air

Mikroba tidak akan tumbuh tanpa adanya air. Air merupakan bagian terbesar dari sel, mencapai kurang lebih 70-80%. Air sangat penting bagi kehidupan jasad renik atau kehidupan pada umumnya, sebab air ikut ambil bagian dalam semua proses kimia dari sel. Air bertindak sebagai sumber oksigen bagi bahan organik sel dan merupakan pelarut nutrien sehingga dapat diserap oleh sel serta dapat menyerap panas yang dihasilkan selama proses metabolisme berlangsung. Air merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba dan kelangsungan proses fermentasi (Timotius, 1982).

2.5.1 Bagian-bagian Komponen dari Proses Fermentasi

Didalam proses fermentasi terdapat 6 komponen dasar yang harus diperhatikan, yaitu seperti yang ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 2. 1. Skema dari proses fermentasi (Standbury dan Whitaker, 1984).

1. Formulasi media yang digunakan sebagai proses perkembangbiakan mikroba sejak persiapan inokulum sampai tahap fermentasi untuk produksi.
2. Sterilisasi media dan peralatan lainnya.
3. Produksi biakan aktif dan murni dalam jumlah yang cukup untuk ditumbuhkan dalam medium produksi.
4. Pertumbuhan organisme dalam media produksi dalam kondisi optimal untuk pembentukan produk.
5. Ekstraksi produk dan pemurniannya.
6. Penanganan limbah produksi.

2.5.2 Mekanisme Fermentasi

Ketersediaan kulit singkong yang cukup besar menimbulkan kekhawatiran tentang limbah kulit singkong yang dihasilkan dari produk singkong. Berdasarkan beberapa penelitian menyatakan bahwa kulit singkong memiliki kandungan

protein yang rendah, serat kasar yang tinggi, serta kandungan asam sianida (HCN) didalamnya. Keadaan kulit singkong yang rendah nutrisi serta mengandung zat anti nutrisi ini menunjukkan perlunya pengolahan lebih lanjut untuk memperbaiki nutrisi yang terkandung dan juga mengurangi kandungan racun (HCN) pada kulit singkong.

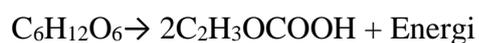
Salah satu proses pengolahan yang dapat menurunkan kandungan sianida dalam kulit singkong adalah proses fermentasi. Fermentasi dapat menghilangkan HCN dari suatu bahan pakan (Cecep, 2009). Prinsipnya teknologi fermentasi ini adalah proses pembiakkan mikroorganisme terpilih pada media kulit singkong dengan kondisi tertentu sehingga mikroorganisme tersebut dapat berkembang dan mengubah komposisi kimia media tersebut sehingga menjadi bernilai gizi lebih baik. Enzim yang dihasilkan selama proses fermentasi ini diharapkan dapat memecah serat yang cukup tinggi menjadi molekul karbohidrat yang lebih sederhana, sehingga meningkatkan jumlah energi yang dapat dimetabolisme.

Mekanisme fermentasi asam laktat dapat dianggap berlangsung dari glukosa melalui pembentukan asam piruvat menjadi asam laktat. Berikut merupakan fermentasi asam laktat:

Reaksinya: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_3OCOOH + \text{Energi}$

Prosesnya:

1. Glukosa \rightarrow asam piruvat (proses Glikolisis) + energi



2. Dehidrogenasi asam piruvat akan membentuk asam laktat



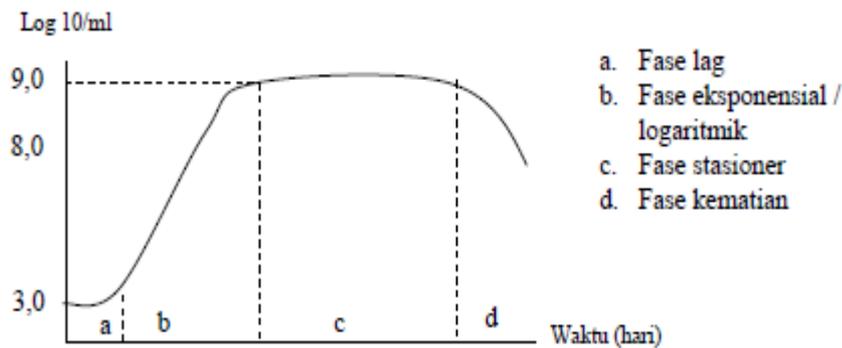
Piruvat Dehidrogenasi

Energi yang terbentuk dari glikolisis hingga terbentuk asam laktat:

$$8 \text{ ATP} - 2 \text{ NADH}_2 = 8 - 2 (3 \text{ ATP}) = 2 \text{ ATP} \text{ (Poedjiadi, 1994)}$$

2.5.3 Pertumbuhan Mikroorganisme dalam Proses Fermentasi

Fase pertumbuhan mikroba merupakan salah satu faktor penting yang harus diketahui selama proses fermentasi. Dalam suatu sistem fermentasi, biakan mikroba akan mengalami empat fase pertumbuhan (Buckle, 1987).



Gambar 2. 2Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme

a) Fase Lambat (*Lag phase*)

Fase lambat ini dapat terjadi antara beberapa menit sampai beberapa jam tergantung pada spesies, umur dari sel inokulum dan lingkungannya. Waktu pada fase lambat dibutuhkan untuk kegiatan metabolisme dalam rangka persiapan dan penyesuaian diri dengan kondisi pertumbuhan dalam lingkungan yang baru.

b) Fase Log (*Log phase*)

Setelah beradaptasi terhadap kondisi baru, sel-sel ini akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum yang dapat dibantu oleh kondisi lingkungan yang dicapai.

c) Fase Tetap (*Stationary phase*)

Pertumbuhan populasi mikroorganisme biasanya dibatasi oleh habisnya bahan gizi yang tersedia atau penimbunan zat racun sebagai bahan akhir

metabolisme. Akibatnya kecepatan pertumbuhan menurun dan pertumbuhan akhirnya terhenti. Pada titik ini dikatakan sebagai fase tetap (*stationary phase*). Komposisi sel-sel pada fase ini berbeda dibandingkan dengan sel-sel saat fase eksponensial dan umumnya lebih tahan terhadap perubahan-perubahan kondisi fisik seperti panas, dingin dan radiasi maupun terhadap bahan-bahan kimia.

d) Fase Menurun (*Decline or death phase*)

Sel-sel yang berada pada fase tetap akhirnya akan mati bila tidak dipindahkan ke media segar lainnya. Sebagaimana pertumbuhan, kematian sel juga secara eksponensial dan karenanya dalam bentuk logaritmis, fase menurun atau kematian ini merupakan penurunan secara garis lurus yang digambarkan oleh jumlah sel-sel yang hidup terhadap waktu. Kecepatan kematian berbeda-beda tergantung dari spesies mikroorganisme dan kondisi lingkungannya.

Kurva pertumbuhan pada gambar 2 terjadi pada fermentasi sistem tertutup, dimana tidak dilakukan penambahan komponen substrat setelah inokulasi ke dalam media kecuali penambahan oksigen (udara), antibiuh dan asam atau basa untuk mengatur pH.

2.6 Tepung Kulit Singkong Terfermentasi

Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) tepung kulit singkong terfermentasi ini dikenal dengan nama Ferkusi (*modified cassava flour*) merupakan tepung yang diperoleh dari kulit singkong dengan proses fermentasi asam laktat. Tepung mokaf memiliki karakteristik khas dan dapat dikembangkan sebagai bahan pangan pada skala luas. Mikroba yang tumbuh menghasilkan enzim pektinolitik dan selulolitik yang dapat menghancurkan singkong sedemikian rupa

sehingga terjadi liberasi granula pati yang pada akhirnya akan terbentuk asam laktat (Subagio dkk., 2008).

Prinsip pembuatan tepung ferkusi adalah memodifikasi sel singkong dengan cara fermentasi sehingga menyebabkan perubahan karakteristik yang dihasilkan berupa naiknya viskositas (daya rekat), kemampuan gelasi, daya rehidrasi dan *solubility* (kemampuan melarut) sehingga memiliki tekstur yang lebih baik dibandingkan tepung tapioka atau tepung singkong biasa. Demikian pula cita rasa ferkusi menjadi netral karena menutupi cita rasa singkong sampai 70%. Singkong sebagai bahan baku pembuatan tepung ferkusi dalam prosesnya perlu dimodifikasi terlebih dahulu untuk menghasilkan produk tepung cassava termodifikasi yang memiliki karakteristik lebih baik (Nugraheni et al., 2015).

Cara meningkatkan kandungan protein pada tepung ferkusi yaitu salah satunya dengan penambahan Protein Sel-Tunggal (PST). Protein sel-tunggal (PST) adalah sel khamir, kapang, bakteri dan ganggang yang tumbuh dan berisi protein. Sel-sel mikroba ini juga mengandung karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral. Produk protein sel-tunggal kemungkinan dapat digunakan sebagai makanan manusia dan makanan ternak. Protein sel-tunggal mempunyai potensi yang penting sebagai sumber asam amino, protein, vitamin dan mineral yang disusun dari bahan non-pangan atau limbah (Sa'id, 1987).

Pada proses fermentasi, mikroba yang tumbuh menghasilkan enzim pektinolitik dan selulolitik yang dapat menghancurkan dinding sel singkong sehingga terjadi liberasi granula pati. Selanjutnya, granula pati tersebut akan mengalami hidrolisis yang menghasilkan monosakarida sebagai bahan baku untuk

menghasilkan asam-asam organik. Senyawa asam ini akan terimbibisi dalam dan ketika bahan tersebut diolah dapat menghasilkan aroma dan cita rasa khas yang dapat menutupi aroma dan cita rasa singkong yang cenderung tidak menyenangkan konsumen (Nugraheni et al., 2015).

Menurut Salim (2011) Proses liberasi ini menyebabkan perubahan karakteristik tepung yang dihasilkan, berupa naiknya viskositas, kemampuan gelasi, daya rehidrasi dan mudah melarut. Pada *chips* singkong tanpa fermentasi, jika penjemuran terhambat maka timbul warna kecokelatan dan aroma yang kurang sedap. Proses fermentasi menggunakan starter dilakukan selama 12 jam, proses fermentasi optimal apabila telah mencapai pH 4. Penurunan nilai pH dari nilai 7 hingga 4 disebabkan oleh aktifitas dari mikroba dalam starter. Dalam aktifitas fermentasi menghasilkan asam laktat, asam organik lain, enzim-enzim, senyawa volatile yang terdispersi kedalam air dan akan mempengaruhi struktur ferkusi, sifat fisiko kimia serta aroma ferkusi setelah fermentasi.

Salim (2011) mengungkapkan bahwa tepung ferkusi memiliki kandungan nutrisi yang berbeda dari tepung terigu. Perbedaan kandungan nutrisi yang mendasar adalah tepung ferkusi tidak mengandung zat gluten yaitu zat yang hanya ada pada terigu, yang menentukan kekenyalan makanan. Berikut merupakan perbandingan komposisi kandungan kimiawi antara tepung terigu dengan tepung ferkusi.

Tabel 2. 3 Perbedaan komposisi kimia Ferkusi dengan tepung singkong

Parameter	Ferkusi	Tepung Singkong
Kadar air	13%	13%
Kadar protein	1,0%	1,2%
Kadar abu	0,2%	0,2%
Kadar pati	85-87%	82-85%
Kadar serat	1,9-3,4%	1,0-4,2%
Kadar lemak	0,4-0,8%	0,4-0,8%
Kadar HCN	Tidak terdeteksi	Tidak terdeteksi

Sumber: Subagio et al. (2008)

Tabel 2. 4. Perbedaan sifat organoleptik Ferkusi dengan tepung singkong

Parameter	FERKUSI	Tepung Singkong
Warna	Putih	Putih agak kecoklatan
Aroma	Netral	Kesan singkong
Rasa	Netral	Kesan singkong

Sumber: Subagio et al. (2008)

2.6.1 Keunggulan Tepung Kulit Singkong

Tepung singkong yang telah dimodifikasi dengan perlakuan fermentasi memiliki karakteristik mirip terigu sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengganti terigu atau campuran terigu karena mempunyai nilai ekonomi yang cukup tinggi dibanding produk asalnya. Tepung ferkusi tidak memiliki kandungan gluten. Oleh karena itu, penggunaan tepung ferkusi untuk mensubstitusi tepung terigu hingga 100% akan menurunkan kualitas produk olahan, baik cita rasa maupun tampilan. Namun demikian pada dasarnya tepung ferkusi dapat menggantikan tepung terigu 100% pada produk-produk tertentu meskipun kualitasnya sedikit berbeda dibandingkan 100% menggunakan tepung terigu (Salim, 2011).

Inovasi produk tepung cassava merupakan terobosan baru yang memberikan banyak manfaat, khususnya kepada konsumen rumah tangga dan industri-industri makanan yang tergantung pada bahan dasar tepung terigu. Produksi tepung ferkusi juga telah banyak memberikan manfaat bagi para petani singkong. Saat ini para produsen tepung ferkusi telah bekerja sama dengan petani singkong dengan sistem kemitraan. Hal ini telah banyak membantu para petani untuk meningkatkan kesejahteraan (Salim, 2011). Tepung ferkusi dapat diolah menjadi berbagai produk olahan misalnya mie ubi kayu, tiwul instan, aneka macam kue ubi kayu serta dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama asalkan dapat mempertahankan kandungan air dalam produk konstan $\leq 14\%$ (Pudjianto, 2012).

FERKUSI dapat digolongkan sebagai produk olahan *edible cassava* yang dapat dimakan. Oleh karena itu, syarat mutu ferkusi dapat mengacu kepada CODEX STAN 176-1989 (Rev.1-1995) tentang *edible cassava flour*. Selain itu, tepung ferkusi memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan jenis tepung lainnya, diantaranya: (1) Kandungan serat makan terlarut lebih tinggi daripada tepung gaplek, (2) Kandungan kalsium lebih tinggi dibanding padi/gandum, (3) Mempunyai daya kembang setara dengan gandum tipe II (kadar protein menengah), (4) Daya cerna lebih tinggi dibandingkan dengan tapioka gaplek (BKP3 Bantul, 2012).

Tepung ferkusi termodifikasi telah mengalami perbaikan mutu selama proses fermentasi. Berbagai parameter nilai mutu tepung ferkusi mengalami perbaikan, diantaranya warna menjadi semakin putih, aroma singkong berkurang secara signifikan, tekstur lebih halus, elastisitas meningkat, lebih mengembang

saat digunakan sebagai bahan untuk pembuatan produk olahan kue, rasa pahit berkurang secara signifikan dan lain-lain.

2.6.2 Pembuatan Tepung Kulit Singkong

Prosedur pembuatan tepung kulit singkong (FERKUSI) menurut Emil (2011) meliputi:

1. Sortasi atau pemilihan yaitu dengan memilih kulit singkong yang tidak busuk dan segar.
2. Bagian yang paling luar pada kulit singkong (warnanya coklat tua agak kasar) dibuang.
3. Pencucian menggunakan air yang mengalir. Tujuan pencucian untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada kulit singkong. Selain itu juga bertujuan untuk mengurangi kadar HCN yang ada dalam kulit singkong, untuk mengurangi getah yang melekat dan mengurangi rasa getas pada kulit singkong, setelah itu dipotong tipis-tipis.
4. Fermentasi dilakukan dengan merendam kulit singkong yang telah dicuci.
5. Penjemuran dilakukan sekitar 2-3 hari sampai kering. Penjemuran bertujuan untuk mematikan segala macam kuman dan bakteri yang menempel pada kulit singkong, mengurangi kadar air pada kulit singkong serta mengurangi kadar HCN, mempercepat proses pengeringan baik dilakukan secara langsung (penjemuran dengan sinar matahari langsung) atau tidak langsung.
6. Penggilingan, pada saat proses penggilingan semua bahan dihancurkan hingga menjadi halus.

7. Penyaringan/pengayakan. Penyaringan tepung dilakukan dengan menggunakan ayakan berukuran 200 mesh. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan tepung kulit singkong yang halus dan baik.

2.6.3 Aktivitas *L. casei* terhadap Kadar HCN, Serat Kasar, dan Protein

a) Aktivitas *L. casei* terhadap Kadar HCN

Bakteri *L. casei* memiliki peranan mempercepat kerusakan dinding sel pada kulit singkong melalui kandungan enzim selulolitiknya. Dinding sel tersusun atas selulosa yang akan diuraikan oleh enzim selulolitik bakteri selama fermentasi (Kanetro, Bayu dan Setyo Hastuti, 2006).

Umbi singkong mengandung Glukosida sianogenik dan enzim linamarase. Enzim ini akan mengubah glukosida sianogenik menjadi hidrogen sianida (HCN) yang bersifat racun. Reaksi tersebut terjadi saat glukosida dalam singkong terpecah akibat dari pemrosesan atau saat dicerna (Atlaw, 2018).

Secara umum senyawa racun berada dalam vakuola sel dan enzimnya berada pada sitoplasma. Rusaknya jaringan menyebabkan kedua senyawa bertemu dan terjadi reaksi. Namun dengan perendaman dalam air, senyawa yang terbentuk akibat reaksi tersebut akan larut, sedangkan senyawa – senyawa yang berada di dalam sel akan terdifusi keluar. Mengendornya jaringan umbi akan menyebabkan senyawa racun maupun senyawa lain yang terdapat di dalam sel keluar (Djaafar *et al.*, 2009).

b) Aktivitas *L. casei* terhadap Kadar Serat Kasar

Proses fermentasi dapat menurunkan kadar serat kasar pada suatu bahan makanan (Putri dan Hersoelistyorini, 2012). Penggunaan Bakteri Asam Laktat (BAL) termasuk *L. casei* dapat mempercepat hidrolisis serat kasar menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dicerna oleh tubuh. Selama proses fermentasi, *L. casei* membutuhkan sumber karbon untuk energi pertumbuhannya. *L. casei* memproduksi enzim selulase β -glukosida dan β -

galaktosida yang berperan untuk mendegradasi selulosa menjadi molekul yang lebih sederhana seperti glukosa (Iokapirnasari, 2018). Glukosa kemudian difermentasikan melalui glikolisis menjadi asam piruvat dan akhirnya menjadi menjadi asam lemak rantai pendek yang dapat dicerna dalam usus (Zubaidah 2010).

c) Aktivitas *L. casei* terhadap Kadar Protein

Chelule *et al.* (2010) dalam Aini *et al.* (2016) melaporkan bahwa penggunaan bakteri asam laktat dalam proses fermentasi dapat meningkatkan palatabilitas makanan dan meningkatkan kualitas makanan yaitu peningkatan ketersediaan protein dan vitamin. Bertambahnya kadar protein disebabkan adanya aktivitas fermentasi oleh bakteri asam laktat yang menghasilkan enzim protease dikarenakan pengaruh lama waktu fermentasi dapat meningkatkan populasi *Lactobacillus casei*. Sehingga kadar protein terlarut pada tepung mocaf juga meningkat. Peningkatan jumlah protein ini disebabkan oleh adanya penambahan jumlah mikroorganisme yang berperan sebagai *Single Cell Protein* (SCP), yaitu protein yang didapat dari mikroorganisme (Vincent, 1969 dan Becker, 1982).

Terdapat 4 fase pertumbuhan mikroba, diantaranya yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian (Waluyo, 2004). Pertumbuhan bakteri asam laktat juga dapat mengalami peningkatan dengan meningkatnya waktu inkubasi, suhu, kelembaban, cahaya, pH dan nutrisi yang akan menyebabkan pertumbuhan bakteri asam laktat lebih optimum (Mallesha *et al.*, 2010). Chelule *et al.* (2010) dalam Aini *et al.* (2016) juga melaporkan bahwa penggunaan bakteri asam laktat dalam proses fermentasi dapat meningkatkan palatabilitas makanan dan

meningkatkan kualitas makanan yaitu peningkatan ketersediaan protein dan vitamin. Bertambahnya kadar protein disebabkan adanya aktivitas fermentasi oleh bakteri asam laktat yang menghasilkan enzim protease dikarenakan pengaruh lama waktu fermentasi dapat meningkatkan populasi *Lactobacillus casei*. Sehingga kadar protein terlarut pada tepung mocaf juga meningkat. Peningkatan jumlah protein ini disebabkan oleh adanya penambahan jumlah mikroorganisme yang berperan sebagai *Single Cell Protein* (SCP), yaitu protein yang didapat dari mikroorganisme (Vincent, 1969 dan Becker, 1982). Terdapat 4 fase pertumbuhan mikroba, diantaranya yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian (Waluyo, 2004). Pertumbuhan bakteri asam laktat juga dapat mengalami peningkatan dengan meningkatnya waktu inkubasi, suhu, kelembaban, cahaya, pH dan nutrisi yang akan menyebabkan pertumbuhan bakteri asam laktat menjadi lebih optimum (Mallesha *et al.*, 2010).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental murni yang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan menggunakan dua faktor. Faktor yang A adalah konsentrasi *Lactobacillus casei* yang terdiri dari A₀ (kontrol), A₁ (konsentrasi 2%), A₂ (konsentrasi 4%), dan A₃ (konsentrasi 6%). Sedangkan faktor B adalah lama fermentasi tepung kulit singkong yang terdiri dari B₁ (lama penyimpanan 24 jam), B₂ (lama penyimpanan 72 jam), dan B₃ (lama penyimpanan 120 jam). Secara skematis rancangan penelitian ini dapat digambarkan melalui Tabel 3.1

Tabel 3. 1 Kombinasi perlakuan antar konsentrasi dan lama fermentasi

A B		Konsentrasi <i>Lactobacillus casei</i> (A)			
		A ₀	A ₁	A ₂	A ₃
Lama Fermentasi Tepung Kulit Singkong (B)	B ₁	A ₀ B ₁	A ₁ B ₁	A ₂ B ₁	A ₃ B ₁
	B ₂	A ₀ B ₂	A ₁ B ₂	A ₂ B ₂	A ₃ B ₂
	B ₃	A ₀ B ₃	A ₁ B ₃	A ₂ B ₃	A ₃ B ₃

Keterangan :

- a. Faktor A adalah konsentrasi *Lactobacillus casei* yang terdiri dari 4 kategori:

A₀ = Kontrol (tanpa perlakuan)

A₁ = Konsentrasi 2%

A₂ = Konsentrasi 4%

A₃ = Konsentrasi 6%

b. Faktor B adalah lama fermentasi tepung kulit singkong yang terdiri dari 3 kategori:

B_1 = Lama inkubasi 24 jam

B_2 = Lama inkubasi 72 jam

B_3 = Lama inkubasi 120 jam

Penempatan satuan-satuan percobaan dalam lingkungan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*). Pengelompokan dilakukan agar setiap satuan-satuan percobaan memiliki peluang yang sama untuk memperoleh suatu perlakuan tertentu. Pengelompokan perlakuan pada satuan-satuan percobaan dapat menggunakan tabel bilangan acak, sistem lotere secara manual (Winarsunu, 2012).

Satuan-satuan percobaan dalam penelitian ini adalah berbagai konsentrasi *Lactobacillus casei* yang dibagi dalam 4 kelompok yakni konsentrasi 0% (A_0), konsentrasi 2% (A_1), konsentrasi 4% (A_2), konsentrasi 6% (A_3). Setiap konsentrasi *Lactobacillus casei* tersebut kemudian dibagi lagi sesuai banyaknya perlakuan yang akan dicobakan. Perlakuan yang dicobakan berupa lama fermentasi tepung kulit singkong setelah perlakuan yang bervariasi 24 jam (B_1), 72 jam (B_2), 120 jam (B_3). Setiap petak dalam RAL faktorial memiliki sifat homogen. Penempatan setiap satuan-satuan percobaan pada petak dilakukan dengan cara mengelompok pada saat peletakan bahan dan pada saat fermentasi tepung kulit singkong. Hal ini berarti seluruh unit percobaan mempunyai peluang yang sama besar untuk menerima perlakuan. Perhitungan tersebut menggunakan cara menentukan jumlah ulangan menurut Kemas (1994):

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(12-1) (r-1) \geq 15$$

$$11 (r-1) \geq 15$$

$$11r - 11 \geq 15$$

$$r \geq \frac{26}{11}$$

$r \geq 2,36$ (ulangan yang digunakan adalah 3 kali)

Keterangan :

r : Replikasi

t : *Treatment* (perlakuan)

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah oleh peneliti dengan tujuan untuk mengetahui pengaruhnya pada objek yang diteliti. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi *Lactobacillus casei* dan lama fermentasi.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang muncul akibat perlakuan pada variable bebas dan kontrol. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar serat, kadar protein, kadar asam sianida (HCN) dan uji prebiotik (kadar total BAL).

3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variable yang mempengaruhi hasil penelitian namun dapat dikendalikan oleh peneliti. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah kualitas kulit singkong, pH, kelembaban.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November-Desember 2020, dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pengambilan data dilaksanakan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, inkubator, LAF (*Laminar air flow cabinet*), mikropipet, pisau, baskom, oven, tabung reaksi, gelas beker, labu ukur, cawan petri, *hot plate* and *magnetic stirrer*, erlenmayer, autoklaf, ose jarum, blender, ayak, shaker waterbath, pendingin tegak, labu destilasi, corong buhner, gelas ukur, bunsen, korek api, plastik wrap, karet, tube, alat suling kjeldahl, kertas saring, indikator fenolftalin, kapas, tisu, aluminium foil, kertas label, kamera dan alat tulis.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah starter bakteri asam laktat (*Lactobacillus casei*), kulit singkong, aquades, MRS Agar, MRS Broth, NaOH 0,5 gr, KCL, Na₂CO₃, Ninhidrin, H₂SO₄ 1,25% 50 mL, NaOH 3,25% 50 mL, air panas, Etanol 96%, Etanol 78%, Etanol murni, aquades, BSA, Biuret, asam asetat.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan mencuci alat-alat gelas (tabung reaksi, erlenmayer, gelas beker, labu ukur, cawan petri, ose jarum, gelas ukur, tube) menggunakan detergen lalu dibilas hingga bersih. Alat-alat yang telah dicuci kemudian dikeringkan dengan menggunakan tisu. Cawan petri dibungkus dengan kertas, kemudian dimasukkan kedalam plastik beserta dengan alat-alat yang lain dan diikat dengan karet. Selanjutnya peralatan tersebut dimasukkan kedalam keranjang dan di autoklaf dengan suhu 121⁰C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.5.2 Pembuatan Media

Media tumbuh selektif yang diperlukan untuk menumbuhkan Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus casei* yaitu media MRS (*de Man Rogossa Sharpe*) yang dikembangkan oleh de Man, Rogossa dan Sharpe (Brenner et.al., 2005).

a. De Man Rogossa Sharpe Broth (MRSB)

Media MRSB (*de Man Rogossa Sharpe Broth*) dibuat dengan melarutkan 10 gram MRS Broth pada 200 mL aquades. Media kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* dan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya, media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Muhibah, 2013).

b. De Man Rogossa Sharpe Agar (MRSA)

Media MRSA (*de Man Rogossa Sharpe Agar*) dibuat dengan melarutkan MRS Agar sebanyak 15 gram dalam aquades 100 mL. Kemudian media dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* dan dihomogenkan dengan

menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah agak dingin, larutan media dipindah ke Erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan kapas dan aluminium foil. Selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Muhibah, 2013).

c. Pemiakan Bakteri *Lactobacillus casei*

Bakteri asam laktat yang akan dipakai untuk fermentasi harus diregenerasikan terlebih dahulu sebelum digunakan. Biakan murni bakteri *Lactobacillus casei*, ditumbuhkan secara aseptik dan diperbanyak dengan metode *streak plate* pada cawan petri yang berisi media MRS agar lalu diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Selanjutnya isolat bakteri *Lactobacillus casei* dibiakkan pada media yang berisi MRS broth, kemudian diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 121 rpm pada suhu 37⁰C selama 24 jam (Ningsih, dkk., 2016). Selanjutnya dibuat stok bakteri biakan sebanyak 100 ml.

3.5.3 Pembuatan Tepung Kulit Singkong Terfermentasi

Langkah awal proses pembuatan tepung kulit singkong dimulai dengan pengupasan kulit bagian luar yang berwarna coklat lalu dibilas dengan menggunakan air mengalir hingga bersih dan ditiriskan. Kulit bagian dalam (berwarna putih) kemudian dipotong kecil-kecil sekitar 1x1 cm.

Fermentasi dilakukan dengan perendaman kulit singkong dalam campuran aquades dan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* 0%, 2%, 4% dan 6%. Sebanyak 50gr kulit singkong yang telah di potong direndam dalam total 100 ml larutan yang berisi masing-masing konsentrasi bakteri asam laktat. Pembuatan larutan konsentrasi 0%, 2%, 4%, dan 6% adalah sebagai berikut.

a) 0% *L. casei*
= 100 ml aquades

b) 2% *L. casei*
 $= \frac{2}{100} 100\%$
= 2 ml

Jadi 2 ml starter *L. casei* dan 98 ml aquades

c) 4% *L. casei*
 $= \frac{4}{100} 100\%$
= 4 ml

Jadi 4 ml starter *L. casei* dan 96 ml aquades

d) 6% *L. casei*
 $= \frac{6}{100} 100\%$
= 6 ml

Jadi 6 ml starter *L. casei* dan 94 ml aquades

Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama waktu perlakuan yang telah ditentukan (24 jam, 72 jam dan 120 jam). Langkah selanjutnya, kulit singkong yang telah difermentasikan ditiriskan dan dikeringkan dalam oven/cabinet drying pada suhu 70°C selama ± 12 jam atau sampai tekstur bahan yang dikeringkan telah menjadi getas (rapuh). Setelah kering, dilanjutkan dengan proses penggilingan yang dilakukan dengan menggunakan blender selama 1-2 menit. Langkah terakhir yakni proses pengayakan yang dilakukan untuk mendapatkan ukuran produk yang seragam, ayakan yang digunakan berukuran 80 mesh. (Siboro, 2016).

3.6 Analisis Tepung Kulit Singkong Terfermentasi

Parameter yang akan diamati dalam penelitian ini yakni kadar asam sianida (HCN), kadar protein, kadar serat dan uji total BAL.

3.6.1 Analisis Kadar Asam Sianida (HCN)

Analisis HCN dilakukan berdasarkan metode oleh Nasta'in dan Wiyarsih (2019). Langkah pertaman adalah pembuatan kurva kalibrasi Standar menggunakan Kalium Sianida (KCN) yang diawali dengan membuat larutan induk 1000 ppm. KCN diencerkan 0,25 gram dalam 100 mL akuades.

Selanjutnya, larutan diambil dan dibuat konsentrasi 0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,12; dan 0,14 ppm. Pada tiap konsentrasi, diambil sebanyak 6 mL lalu ditambahkan dengan 1 mL Ninhidrin dan 1 mL Na₂CO₃. Kemudian absorbansi diukur dengan spektrometri menggunakan panjang gelombang 587,6 nm. Pengujian sampel tepung fermentasi dilakukan dengan mengambil masing-masing 2 gr sampel tepung, lalu diencerkan ke dalam beaker glass yang berisi 250 ml akuades. Larutan kemudian disaring hingga volume 500 ml dengan akuades. Sebanyak 1 ml sampel lalu diencerkan 5000 kali dengan penambahan 1 ml Ninhidrin dan 1 ml Na₂CO₃. Sampel kemudian diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 587,6 nm dan dicatat absorbansinya (Wahono *et al.*, 2016). Kadar HCN kemudian dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{HCN \%} = \frac{\left(\frac{\text{absorbance}}{\text{slop}}\right) \times \text{faktor pengencer}}{\text{berat sampel} \times 10^6} \times 100$$

3.6.2 Analisis Kadar Serat Kasar

Sampel tepung kulit singkong terfermentasi diambil sebanyak 2 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL. Sampel ini kemudian dilarutkan pada 50 mL larutan H₂SO₄ 1,25% dan dididihkan selama 30 menit dengan menggunakan pendingin tegak. Selanjutnya ditambahkan 50 mL NaOH 3,25% dan dididihkan kembali menggunakan pendingin tegak selama 30 menit. Larutan disaring dalam keadaan panas menggunakan corong *Buhner* yang berisi kertas saring yang telah dikeringkan dan diketahui massanya. Endapan yang terdapat dalam kertas saring dibilas berturut-turut dengan menggunakan H₂SO₄ 1,25% panas, air panas dan etanol 96%. Kertas saring beserta isinya diangkat dan

dimasukkan ke dalam oven dan dikeringkan pada suhu 105⁰C. Larutan kemudian didinginkan dan ditimbang hingga massanya tetap atau konstan. Kadar serat kasar kemudian dihitung dengan menggunakan rumus (Badan Standarisasi Nasional, 2011) :

$$\text{Kadar Serat (\% b/b)} = \frac{\text{massa serat (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

3.6.3 Analisis Kadar Protein

Ditimbang sebanyak 1 gram *Bovin Serum Albumin* (BSA), dilarutkan dengan air suling di dalam gelas ukur 10 ml hingga tanda batas, kemudian diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 10% b/v (Jubaidah, 2016).

Penentuan Panjang Gelombang Optimum

Larutan standar BSA dengan konsentrasi 3% dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dengan diambil sebanyak 0,9 ml larutan BSA dan ditambahkan 0,8 ml pereaksi Biuret kemudian ditambah aquades hingga volume menjadi 3 ml. Larutan dibiarkan ± 10 menit (agar bereaksi), absorbansi diukur pada panjang gelombang 595 nm.

Pembuatan Kurva Standar

Disiapkan sebanyak 6 tabung reaksi kemudian diisi larutan dengan komposisi sebagai berikut:

Tabel 3. Pembuatan Kurva Larutan Standar

Larutan Induk (ml)	Pereaksi Biuret (ml)	Air Suling (ml)	Konsentrasi BSA (%)
0	0	3.0	0
0.3	0.8	1.9	1

0.6	0.8	1.6	2
0.9	0.8	1.3	3
1.2	0.8	1.0	4
1.5	0.8	0.7	5

Setelah 10 menit, diukur absorbansi tiap larutan menggunakan spektrofotometer uv-vis. Dan dicatat hasilnya.

Pengukuran kadar protein sampel

Sampel tepung ferkusi ditimbang masing-masing sebanyak 100 gram, dimasukkan ke dalam gelas ukur ditambah aquades hingga volumenya 1000 ml. Dihaluskan dengan cara diblender kemudian disaring menggunakan kertas saring. Pengukuran kadar protein yaitu: Diambil 0,9 ml sampel. Sampel disentrifugasi selama 10 menit, dibuang bagian supernatan. Endapan yang merupakan protein dilarutkan dengan asam asetat pH 5 hingga volumenya 10 ml. Sebanyak 0,9 ml sampel ditambah 0,8 ml pereaksi Biuret dan 1,3 ml larutan asam asetat pH 5. Larutan dibiarkan selama 10 menit, diukur absorbansinya dan dicatat

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari berbagai pengujian sebelumnya dianalisis dengan menggunakan analisis varian ganda dalam RAL untuk mengetahui pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus casei* dan lama fermentasi terhadap tepung kulit singkong. Selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan ANOVA dua jalur sehingga diketahui antar perlakuan. Bila ada pengaruh yang sangat nyata

diantara perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan's 5% dan dihitung menggunakan SPSS.

Data hasil pengamatan juga dianalisis dengan menggunakan analisis dan spiritual Islam, yakni dengan menggunakan beberapa ayat Al-Quran dan tafsir yang sesuai dengan penelitian dan dikombinasikan menggunakan pemikiran-pemikiran Islam. Hal ini dilakukan untuk menunjukkan sebagai manusia khalifah di bumi dan sebagai tanggung jawab dan ilmuwan Islam.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji TPC (*Total Plate Count*) Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri *L. casei* yang telah dibiakkan pada media kemudian dihitung nilai TPC untuk mengetahui jumlah koloni per ml (Tabel 4.1). Metode ini digunakan untuk menentukan angka bakteri yang hidup di daerah suhu antara 15-55 °C dengan suhu optimal 25-40 °C.

Tabel 4. 1 Hasil Total Plate Count Bakteri Asam Laktat

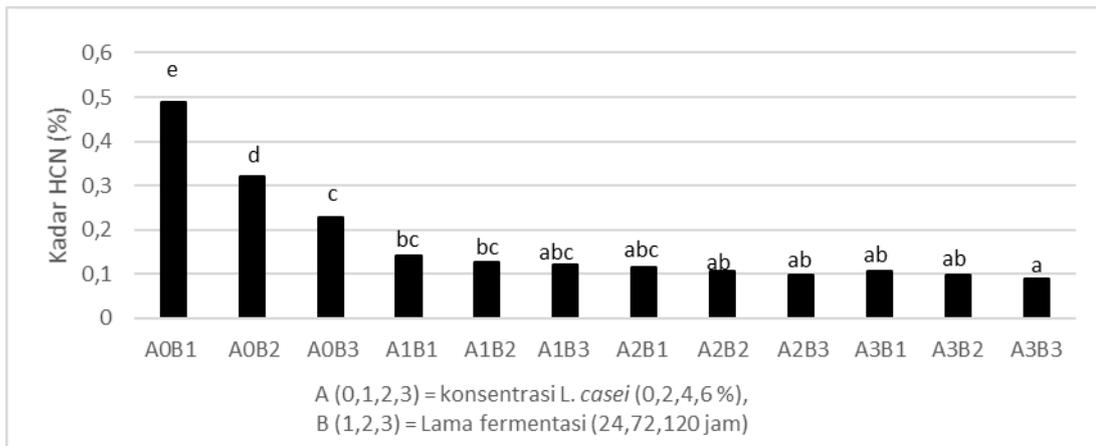
NO	KODE SAMPEL	SERI PENGENCERAN	HASIL : CFU/ ml SAMPEL		HASIL AKHIR
			I	II	
	LC-01	100	>>300	>>300	2.9 . 10⁶ CFU/ml
		1000	>>300	>>300	
		10000	288	297	

Berdasarkan tabel tersebut diketahui bahwa jumlah koloni bakteri yaitu sebesar $2.9 \cdot 10^6$ CFU/ml dengan menggunakan 3x pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan tujuan agar mengurangi jumlah kandungan bakteri dalam sampel sehingga mempermudah dilakukannya pengamatan dan perhitungan koloni (Fardiaz, 1992). Selanjutnya bakteri digunakan untuk melakukan proses fermentasi kulit singkong sesuai dengan perlakuan yaitu 0, 2, 4, dan 6%.

Tujuan uji TPC adalah untuk mengetahui perkiraan jumlah koloni bakteri pada setiap mili-liternya (Fardiaz, 1992). Uji TPC ini juga penting sebagai pembeda dengan penelitian lainnya. Hal ini dikarenakan pemberian konsentrasi 2% pada penelitian ini dimungkinkan berbeda jumlah bakterinya dengan penelitian lain.

4.2 Pengaruh Konsentrasi *Lactobacillus casei* dan Lama Waktu Fermentasi Yang Bervariasi Terhadap Kadar HCN Tepung Kulit Singkong Terfermentasi

Penambahan konsentrasi *L. casei* dan lama waktu perendaman fermentasi yang bervariasi pada kulit singkong (*Manihot esculenta*) menyebabkan terjadinya penurunan pada kadar asam sianida (gambar 4.1).



Gambar 4. 1 Pengaruh konsentrasi *L. casei* dan waktu fermentasi terhadap kadar asam sianida tepung kulit singkong terfermentasi.

Ket: Notasi huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata kadar asam sianida antar perlakuan.

Kadar asam sianida terendah ditunjukkan oleh perlakuan kombinasi A3B3 yaitu fermentasi 120 jam dalam 6% *L. casei* dengan total HCN 0,09% (9 mg/kg). Sedangkan kadar sianida tertinggi sebesar 0,5% (50 mg/kg) ditunjukkan oleh kombinasi perlakuan A0B1 yang merupakan kontrol dengan perendaman selama 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi penurunan kadar HCN dari A0B1 hingga A3B3 sebanyak 0,41% (41 mg/kg).

Berdasarkan analisis menggunakan *two way anova* diperoleh hasil bahwa terdapat pengaruh dari interaksi antara konsentrasi *L. casei* dan waktu fermentasi terhadap kadar asam sianida tepung singkong terfermentasi. Hal tersebut dapat dilihat berdasarkan nilai signifikansi <0.05 .

Perlakuan A3B3 dengan kadar HCN terendah menurut statistik dinyatakan tidak berbeda nyata dengan 6 perlakuan sebelumnya yaitu A1B3, A2B1, A2B2, A2B3, A3B1, dan A3B2 yang ditunjukkan dengan keberadaan notasi “a”. Hal ini disebabkan oleh penurunan nilai HCN hanya berkisar antara 0,009-0,031% saja sehingga dianggap sama. Kesamaan notasi ini dapat dijadikan acuan untuk menentukan perlakuan yang paling efektif. A1B3 dengan konsentrasi *L. casei* 2% dan lama perendaman 120 jam dianggap efektif karena dengan konsentrasi lebih sedikit mampu menunjukkan hasil penurunan HCN yang setara dengan A3B3 (konsentrasi *L. casei* 6% selama 120 jam).

Uji Asam Sianida (HCN) sangat penting untuk dilakukan. Umbi singkong mengandung Glukosida sianogenik dan enzim linamarase. Enzim ini akan mengubah glukosida sianogenik menjadi hidrogen sianida (HCN) yang bersifat racun. Reaksi tersebut terjadi saat glukosida dalam singkong terpecah akibat dari pemrosesan atau saat dicerna (Atlaw, 2018).

Nilai HCN yang didapatkan dari hasil penelitian sudah cukup memenuhi standar SNI. Menurut Yulida (2017), kandungan maksimal asam sianida pada singkong yaitu 40 mg/kg. Standar ini sudah terpenuhi sejak perlakuan A0B2 (konsentrasi *L. casei* 0% lama fermentasi 72 jam) dengan hasil 0,32% (32 mg/kg) yang menunjukkan terjadi penurunan sebesar 0,18 % (18 mg/kg). Penurunan terus terjadi hingga perlakuan A3B3 dengan kadar 0,09% (9 mg/kg). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi *L. casei* dan lama fermentasi yang digunakan akan semakin menurunkan kadar HCN.

Penurunan kadar asam sianida dapat dikarenakan adanya perlakuan perendaman dalam aquades, penambahan bakteri asam laktat untuk fermentasi,

serta proses pengeringan. Wahyuningsih (2011) menyebutkan bahwa akibat perendaman dalam air akan menyebabkan terjadinya sitolisis sehingga menarik aliran HCN keluar dari sel dan larut dalam air disekitarnya. Pernyataan ini dibuktikan juga dalam hasil penelitian ini yaitu pada perlakuan kontrol (A0B1-A0B2-A0B3) yang menunjukkan penurunan kadar sianida sebesar 0,22 % (22 mg/kg) berdasarkan penambahan waktu perendaman aquades meski tanpa penambahan *L. casei*.

Penambahan bakteri *L. casei* berfungsi untuk mempercepat penurunan HCN akibat aktivitas enzim selulolitik didalamnya yang dapat mencerna selulosa pada dinding sel kulit singkong, sehingga HCN tertarik keluar sel. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan yang terus terjadi seiring dengan penambahan konsentrasi *L. casei* dan lama fermentasi. Subagio (2006) menambahkan bahwa keberadaan mikroorganisme dalam larutan akan mempercepat proses sitolisis akibat dari enzim pektinolitik dan selulolitik yang dihasilkannya. Kedua enzim tersebut mampu memecah dinding sel dan merusak senyawa racun yang terdapat di vakuola dan sitoplasma sel. Secara umum senyawa racun berada dalam vakuola sel dan enzimnya berada pada sitoplasma. Rusaknya jaringan menyebabkan kedua senyawa bertemu dan terjadi reaksi. Namun dengan perendaman dalam air, senyawa yang terbentuk akibat reaksi tersebut akan larut, sedangkan senyawa – senyawa yang berada di dalam sel akan terdifusi keluar. Mengendornya jaringan umbi akan menyebabkan senyawa racun maupun senyawa lain yang terdapat di dalam sel keluar (Djaafar *et al.*, 2009). Triyani (2007) menambahkan bahwa masa fermentasi yang cukup lama diperlukan untuk memaksimalkan kesempatan mikroorganisme dalam menguraikan sel dan merusak susunan senyawa glukosida

sianogenik di dalamnya. Selain itu perlakuan perendaman mampu melarutkan senyawa linamarin dan lustralin, serta memacu pertumbuhan mikroorganisme yang dapat mengurangi senyawa racun menjadi senyawa asam organik (Rasulu *et al.*, 2012).

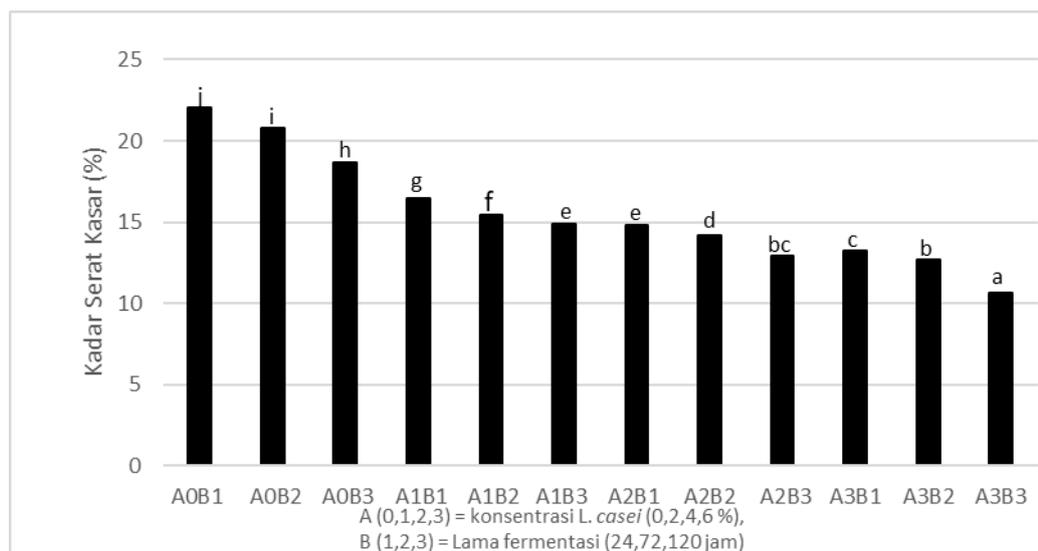
Proses pengolahan sebelum dan sesudah dilakukan fermentasi juga memiliki peran dalam menurunkan kadar HCN. Pencucian sampel dapat melepaskan HCN begitu juga dengan pengeringan pada oven serta penggilingan dengan blender untuk dijadikan tepung ferkusi. Kanetro, Bayu dan Setyo Hastuti, (2006) menjelaskan bahwa perendaman dapat mengakibatkan terjadinya hidrolisis, sehingga senyawa HCN menguap. Coursey (1973) menambahkan bahwa HCN memiliki ikatan yang tidak terlalu kuat, mudah menguap dan hilang atau berkurang dengan beberapa perlakuan seperti pencucian, perendaman, perebusan, pengukusan, dan pemanasan. Ugensi dan Ukozor (2005) mendukung dengan menyatakan bahwa semakin lama dilakukan fermentasi akan semakin menurunkan kadar HCN akibat luruhnya HCN ke dalam pelarut. Hal ini jika dikombinasikan dengan pengeringan dalam oven akan semakin menurunkan total HCN yang dihasilkan akibat dari inaktifnya enzim linamarase yang berperan memecah linamarin dan melepaskan HCN.

Hasil penurunan kadar HCN pada penelitian menggunakan *L. casei* ini diketahui lebih cepat dibandingkan dengan *L. plantarum*. Penelitian oleh Mayangsari (2019) menjelaskan bahwa pada fermentasi tepung ferkusi menggunakan *L. plantarum* 5% selama 5 hari dihasilkan kadar HCN 12,7 mg/kg. Sedangkan pada penelitian ini hasil 12 mg/kg didapatkan oleh A1B3 (2% *L. casei* 120 jam fermentasi atau 5 hari) dan terus mengalami penurunan hingga 9 mg/kg

pada A3B3 (6% *L. casei* 120 jam). Hal ini dapat berkaitan dengan efisiensi fermentasi berdasarkan konstanta pertumbuhan *L. casei* dan *L. Plantarum*. Penelitian yang dilakukan oleh Zacharof (2012) menunjukkan bahwa konstanta kecepatan pertumbuhan *L. casei* yaitu 0,16/jam sedangkan *Lactobacillus plantarum* 0,13/jam. Hal ini menunjukkan bahwa *L. casei* melakukan pembelahan sel per satuan waktu lebih banyak daripada *Lactobacillus plantarum* sehingga fermentasi dapat berjalan lebih cepat. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini juga lebih besar dibandingkan Seveline (2018) bahwa pada fermentasi selama 72 jam dengan perlakuan perendaman menggunakan *L. casei* yakni sebesar 13,98%.

4.3 Pengaruh Konsentrasi *Lactobacillus casei* dan Lama Waktu Fermentasi Yang Bervariasi Terhadap Kadar Serat Kasar Tepung Kulit Singkong Terfermentasi

Penambahan konsentrasi *L. casei* dan lama waktu perendaman fermentasi yang bervariasi pada kulit singkong (*Manihot esculenta*) menyebabkan terjadinya penurunan pada kadar serat kasar (gambar 4.2).



Gambar 4. 2 Pengaruh konsentrasi *L. casei* dan waktu fermentasi terhadap kadar serat kasar tepung kulit singkong terfermentasi.

Ket: Notasi huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata kadar asam sianida antar perlakuan.

Berdasarkan analisis menggunakan *two way anova* dan dilanjutkan dengan analisis DMRT 5% diperoleh hasil bahwa terdapat pengaruh dari interaksi antara konsentrasi *L. casei* dan waktu fermentasi terhadap kadar serat kasar tepung singkong terfermentasi. Hal tersebut dapat dilihat berdasarkan nilai signifikansi <0.05 . Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa kadar serat kasar tertinggi pada perlakuan dengan konsentrasi *L. casei* 0% dan lama perendaman 24 jam (A0B1) yaitu 22,058%. Sedangkan kadar serat kasar paling rendah diperoleh pada tepung singkong terfermentasi yang ditambahkan konsentrasi *L. casei* 6% dan lama perendaman 120 jam (A3B3) dengan kadar serat kasar sebesar 10,601%.

Serat dibedakan menjadi dua jenis yaitu serat kasar yang disusun oleh selulosa, lignin dan sebagian kecil hemiselulosa serta serat makan (*dietary fiber*) terdiri dari selulosa, hemiselulosa, lignin dan substansi pektat (Rachmadi, 2011). Serat kasar terdiri dari senyawa selulosa, hemiselulosa dan lignin yang tidak dapat dicerna oleh manusia (Prawitasari dan Estiningdriati, 2012). Pada bahan makanan, hasil yang diharapkan adalah kandungan serat kasar rendah agar memudahkan pencernaan serta memkasimalkan nilai gizi lainnya

Berdasarkan data hasil penelitian yang didapatkan pada gambar 4.2, dapat diambil kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi *L. casei* dan lama fermentasi akan semakin menurunkan kadar serat kasar. Penurunan serat kasar ini disebabkan oleh aktivitas *L. casei* yang menguraikan selulosa menjadi molekul-molekul sederhana dan energi untuk kelangsungan hidupnya. Hal ini sebagaimana dijelaskan lokapirnasari (2018) bahwa dalam penggunaan Bakteri Asam Laktat (BAL) termasuk *L. casei* dapat mempercepat hidrolisis serat kasar menjadi

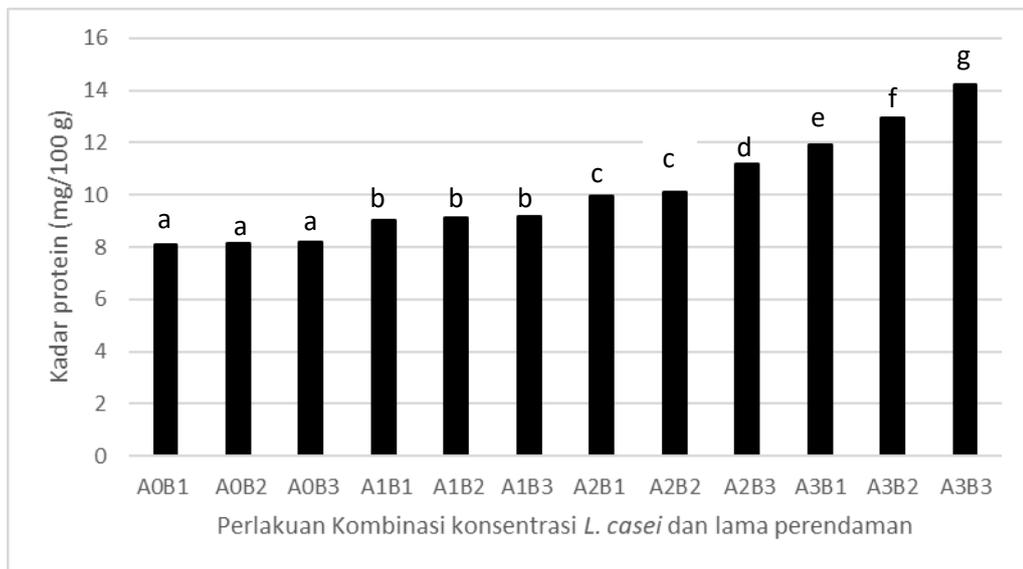
senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dicerna oleh tubuh. Selama proses fermentasi, *L. casei* membutuhkan sumber karbon untuk energi pertumbuhannya. *L. casei* memproduksi enzim selulase β -glukosida dan β -galaktosida yang berperan untuk mendegradasi selulosa menjadi molekul yang lebih sederhana seperti glukosa). Glukosa kemudian difermentasikan melalui glikolisis menjadi asam piruvat dan akhirnya menjadi menjadi asam lemak rantai pendek yang dapat dicerna dalam usus (Zubaidah, 2010).

Hasil rata-rata serat kasar tepung ferkusi menurut Ayuningtyas (2016) adalah 11,2%-16,20%. Sedangkan pada penelitian ini didapatkan hasil yang lebih rendah yaitu 10,601% dari hasil fermentasi 120 jam pada 6% *L. casei*. Menurut Novitasari dan Arief (2018), batas maksimal yang dipersyaratkan oleh SNI untuk serat kasar tepung singkong adalah 3%. Berdasarkan ketentuan tersebut, maka diketahui jumlah serat kasar dalam penelitian ini perlu dikurangi lagi karena belum memenuhi standar SNI.

4.4 Pengaruh Konsentrasi *Lactobacillus casei* dan Lama Waktu Fermentasi yang Bervariasi terhadap Kadar Protein Tepung Kulit Singkong Terfermentasi

Penambahan konsentrasi *L. cassei* dan lama waktu perendaman fermentasi yang bervariasi pada kulit singkong (*Manihot esculenta*) menyebabkan terjadinya peningkatan pada kadar protein (gambar 4.3). Berdasarkan analisis menggunakan *two way anova* dan dilanjutkan dengan analisis DMRT 5% diperoleh hasil bahwa terdapat pengaruh dari interaksi antara konsentrasi *L. cassei* dan waktu fermentasi terhadap kadar protein tepung singkong terfermentasi hal tersebut dapat dilihat berdasarkan nilai signifikansi <0.05 . Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa

kadar protein paling tinggi diperoleh pada tepung singkong terfermentasi yang ditambahkan konsentrasi *L. casei* 6% dan lama perendaman 120 jam dengan kadar protein sebesar 14.25 mg/100 g. Sedangkan kadar protein terendah pada perlakuan dengan konsentrasi *L. casei* 0% dan lama perendaman 24 jam.



Gambar 4. 3 Pengaruh konsentrasi *L. casei* dan waktu fermentasi terhadap kadar protein tepung kulit singkong terfermentasi. Ket: Notasi huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata kadar protein antar perlakuan.

Interaksi pemberian konsentrasi *L. casei* dan waktu fermentasi menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama waktu fermentasi yang diberikan, maka semakin meningkatkan kadar protein pada tepung kulit singkong terfermentasi. Seperti pernyataan Medho *et al.* (2013) bahwa waktu fermentasi dan konsentrasi *L. casei* berpengaruh nyata terhadap kadar protein tepung jagung namun interaksi kedua perlakuan tidak berpengaruh terhadap kadar protein. Semakin lama fermentasi kadar protein semakin meningkat hingga waktu fermentasi 36 jam dengan kadar protein paling tinggi yaitu 8,66% dengan konsentrasi *L. casei* 2%. Aini *et al.* (2016) melaporkan bahwa perendaman jagung dalam bakteri *L. casei* (konsentrasi media dan bahan 2:1) selama 40 (8.1%) jam

menghasilkan kadar protein yang tidak berbeda nyata dengan perendaman selama 60 (8.3%) dan 80 jam (8.1%) tetapi berbeda nyata dengan perendaman selama 20 jam (7.8%). Aptesia *et al.* (2013) menyatakan bahwa konsentrasi terbaik yaitu penambahan konsentrasi tapioka 0,8% dan *L. casei* 2 % dengan lama penyimpanan maksimal pada produk tempe 9 hari dengan komposisi kimia protein sebesar 17.78 %.

Chelule *et al.* (2010) dalam Aini *et al.* (2016) juga melaporkan bahwa penggunaan bakteri asam laktat dalam proses fermentasi dapat meningkatkan palatabilitas makanan dan meningkatkan kualitas makanan yaitu peningkatan ketersediaan protein dan vitamin. Bertambahnya kadar protein disebabkan adanya aktivitas fermentasi oleh bakteri asam laktat yang menghasilkan enzim protease dikarenakan pengaruh lama waktu fermentasi dapat meningkatkan populasi *Lactobacillus casei*. Sehingga kadar protein terlarut pada tepung mocaf juga meningkat. 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 dan Becker, 1982).

Terdapat 4 fase pertumbuhan mikroba, diantaranya yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian (Waluyo, 2004). Pertumbuhan bakteri asam laktat juga dapat mengalami peningkatan dengan meningkatnya waktu inkubasi, suhu, kelembaban, cahaya, pH dan nutrisi yang akan menyebabkan pertumbuhan bakteri asam laktat lebih optimum (Mallesha *et al.*, 2010). Suhu optimum untuk pertumbuhan *L. casei* adalah 30-37⁰C (Najgebauer *et al.*, 2011) dan pada penelitian ini telah dikondisikan suhunya sesuai untuk pertumbuhan *L. casei*.

Paparan data di atas menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi menghasilkan rataan kandungan protein produk yang semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak memberikan kesempatan pada *L. casei* untuk tumbuh dan berkembang sehingga protein sel yang dihasilkan juga semakin banyak. Menurut Aisjah (1995) waktu inkubasi yang singkat mengakibatkan terbatasnya kesempatan mikroba untuk terus tumbuh dan berkembangbiak sehingga jumlah komponen substrat yang dapat diubah menjadi massa sel juga sedikit. Sebaliknya dengan waktu inkubasi yang lebih lama berarti akan semakin banyak kesempatan mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak sampai tercapai stasioner, yaitu laju pertumbuhan sama dengan nol dan jumlah massa sel total konstan.

Jumlah bakteri yang semakin meningkat juga mengakibatkan bertambahnya kadar protein, hal tersebut dikarenakan bakteri terdiri dari protein. Menurut Wizna *et al.*, (2009) Populasi mikroba yang tinggi mengakibatkan kandungan protein tinggi karena mikroba sebagian besar terdiri dari protein. Crueger dan Crueger (1984) menambahkan bahwa kadar protein berbagai jenis mikroba bervariasi, bakteri mengandung protein 70-78%. Selain karena bakteri tersusun dari protein, peningkatan kadar protein juga disebabkan oleh perubahan N inorganik menjadi protein sel. Menurut Pasaribu (1998) kenaikan protein pada proses fermentasi dapat disebabkan oleh perubahan nitrogen anorganik seperti urea, gas amonia atau garam amonia menjadi protein sel. Selanjutnya Gianfreda dan Rao (2004) menyatakan bahwa peningkatan protein dan asam amino pada proses terfermentasi merupakan akumulasi dari protein onggok, protein mikrobial dan protein enzim ekstraseluler produksi mikrobial.

Penelitian pengaruh konsentrasi starter oleh Darmawan (2013) diperoleh tingkat pengembangan tepung ubi kayu modifikasi tertinggi, dimana kadar protein tertinggi yaitu pada perlakuan konsentrasi starter 5%. Selain itu selama proses fermentasi berlangsung protein juga mampu meningkat seiring meningkatnya massa sel mikroorganisme yang tumbuh selama fermentasi berlangsung sehingga mampu menambah kadar protein tepung FERKUSI yang dihasilkan (Hidayat *et al.*, 2009). Syarat mutu protein pada tepung terigu sebagai bahan makanan adalah minimal 7,0% (SNI3751, 2009). Kualitas tepung kulit singkong (*Manihot esculenta*) terfermentasi pada penelitian ini mengacu pada kriteria SNI (2009) bahwa karakteristik tepung kulit singkong terfermentasi yang baik mempunyai kandungan kimia yang sudah ditentukan.

Berdasarkan hasil dari penelitian dapat diketahui bahwa *L. casei* dengan kadar 6% yang digunakan dalam fermentasi tepung kulit singkong selama 120 hari mampu meningkatkan mutu tepung ferkusi yang ditunjukkan dengan peningkatan protein, penurunan kadar serat kasar, serta penurunan kadar HCN. Hal ini menunjukkan bahwa pada dasarnya segala sesuatu di bumi ini dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagaimana firman Allah SWT dalam surat Al-Hijr ayat 21 yaitu :

وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَعْلُومٍ ﴿٢١﴾

Artinya: *Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya; dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu.* (Qs. Al-Hijr (15) 21).

Khazanah memiliki arti kunci-kunci. Hal ini berarti segala sesuatu yang terjadi atas kehendak Allah yang memiliki kunci atau maksud dari semua kejadian. Diriwayatkan oleh Ibnu Mas'ud Al-Hasan bahwa ayat ini pada dasarnya

membahas tentang hujan yang Allah lebihkan pada suatu daerah namun tidak dengan daerah lainnya. Dalam hal ini, Allah bukan berlaku tidak adil, namun hujan dan turunkan tersebut disesuaikan dengan kebutuhan masing-masing (Al-Qurthubi, 2008).

Khazaain merupakan bentuk jamak dari *Khizanah* yang juga memiliki arti tempat penyimpanan atau sumber. Segala sesuatu yang ada di bumi telah disiapkan, diatur, dan ditetapkan sesuai dengan ukurannya masing-masing (Al-Qurthubi, 2008). Sehingga tidak ada sesuatu yang bermanfaat bagi manusia dan hewan-hewan kecuali Allah yang berkuasa mengadakannya dan membuat manusia memanfaatkannya. Kulit singkong sebelumnya hanya digunakan sebagai pakan ternak yang kemudian dimanfaatkan pula oleh manusia menjadi salah satu bahan pangan dengan bantuan *L. casei* sebagai fermentator untuk meningkatkan mutunya dengan takaran-takaran tertentu. Hal ini menjadi bukti bahwa tidak ada penciptaan segala sesuatu yang sia-sia sebagaimana telah Allah aturkan sesuai manfaatnya.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini antara lain:

1. Konsentrasi bakteri asam laktat *L. casei* dan lama fermentasi berpengaruh terhadap karakter kimia tepung kulit singkong (*M. esculenta*) berdasarkan kadar asam sianida, serat kasar, dan protein.
2. Perlakuan A3B3 yaitu konsentrasi *L. casei* 6% dan lama fermentasi 120 jam menunjukkan hasil paling optimal dalam mempengaruhi karakter kimia penurunan kadar serta kasar dan peningkatan protein tepung kulit singkong (*M. esculenta*). Sedangkan untuk penurunan kadar HCN perlakuan yang paling efektif ditunjukkan perlakuan A1B3 yaitu konsentrasi 2% *L. casei* dengan 120 jam fermentasi.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian serupa atau dengan modifikasi perlakuan untuk *M. utilissima* varietas tertentu yang telah dilaporkan memiliki kadar HCN dan serat kasar lebih tinggi serta protein yang lebih rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.R dan Moss M.O. 2000. Food Microbiology. United Kingdom: The Royal Society of Chemistry.
- Aisjah, T. 1995. Biokonversi Limbah Umbi Singkong menjadi Bahan Pakan Sumber Protein oleh Jamur *Rizhopus sp.* Serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Ayam Pedaging. *Tesis*. Bandung: Program Pascasarjana Universitas Padjajaran Bandung.
- Akhadiarto, Sindu. 2010. Pengaruh Pemanfaatan Limbah Kulit Singkong Dalam Pembuatan Pelet Ransum Unggas. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 11(1) : 127-138.
- Al-Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2007. Tafsir Al-Quran Al-Aisar Jilid 2 (Al-Imran dan Al-An'am). Jakarta: Darus Sunnah.
- Al-Qarni, Aidh. 2007. *Tafsir Al-Muyassar I*. Jakarta: Qihti Press
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 10 (Al-Hijr, An-Nahl, Al-isra, Al-Kahfi)*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 13 (Qs. Al-Furqon, As-Syu'ara, An-Naml, Al-Qashash, Al-Ankabut)*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 15 (Qs. Yaasiin, As-Shaffaat, Shaad, Az-Zumar, Ghafiir, Fusshilat)*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Aptesia, L. Tri, Suharyono dan Harun Al Rasyid. 2013. Pemanfaatan *Lactobacillus casei* dan Tapioka dalam Upaya Menghambat Kerusakan Tempe Kedelai. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian Volume 18 No.2*.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Atlaw, Tamiru Kasaye. 2018. Influence of Drying Methods on Flour Quality and Cyanide Content of Cassava Root Tuber. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. Vol. 7. No. 4.
- At-Thabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2008. *Tafsir At-Thabari Jilid 6*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- At-Thabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2008. *Tafsir At-Thabari Jilid 1*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Ayuningtyas, Irma ., Sri Hartini , Margareta Novian Cahyanti. 2016. Optimasi Pembuatan Tepung Ferkusi (Fermentasi Kulit Singkong) Ditinjau dari Variasi Penambahan Angkak. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 5 (2)*
- Bachruddin, Z *et al.*, 2000. *Isolasi dan Seleksi Mikroba Penghasil Laktat dan Aplikasinya pada Fermentasi Industri Tahu*. Hal. 52-65.

- Badan Pusat Statistik. 2017. Sensus Pertanian Jawa Timur.
- Badan Standarisasi Nasional. 1996. *Tepung Singkong* : SNI 01-2997-1996. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. *Tepung Terigu sebagai Bahan Makanan* : SNI 01-3751- 2006. Jakarta.
- Becker, E.W., Venktaraman, L.V. 1982. Biotechnology and exploitation of algae-The Indian approach. German Agency for technical Cooperation, *E schborn, FRG p. 216*.
- Brenner, D. J., R. N. Krieg & J. T. Staley. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 1st ed.* Michigan State University publishers. 384- 402.
- Budiman A.F.S. 1985. *Potensi Pemanfaatan Limbah dan Pemanfaatan Hasil Perkebunan*. Kantor Menetri Negara Muda Urusan Pangan.
- Busairi, AM dan Wikanastri H. 2009. Pengkayaan Protein Kulit Umbi Kayu melalui Proses Fermentasi: Optimasi Nutrien Substrat Menggunakan Response Surface Methodology. Prosiding. ISBN 978-979-983000-1-2.
- Crueger, W. and A. Crueger. 1984. *Biotechnology, a Text book of Industrial Microbiology*. Science Technology. Sinaver Associates Inc. Madison.
- Desrosier, N.W. 1987. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Djaafar, Titiek F., Nurdeana Cahyaningrum., and Heni Purwaningsih. 2009. Physico-Chemical Characteristics Of Tribal Bean (*Canavalia Virosa*) And Its Alternative Tofu And Tempeh Food Products Indonesian Journal Of Agricultural Science.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan Edisi Pertama Cetakan Pertama*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Fitriani, Hanifah. 2017. Pengolahan Kulitr Singkong (*Manihot utilissima*) di Kawasan Adat Cireundeu sebagai Bahan Baku Alternatif Perintang Warna Pada Ikan. *E-Proceeding of Art & Design*. Vol. 4. No.3.
- Fitriani, Novi Dyah *et al.*, 2012. Substitusi Tepung Kulit Singkong terhadap Daya Kembang, Kadar Serat, dan Organoleptik pada Chiffon Cake. *Jurnal Pangan dan Gizi*. Vol. 3. No. 2.
- Fuller, R. 1989. Probiotic In Man And Animals. *Journal Applied Bacteriol.* 66(1): 365-378.
- Ganzle, M.G. 2008. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. *Trends in Food Science and Technology*. 19(2): 513-521.
- Gardjito, Murdjiati. 2013. *Pangan Nusantara Karakteristik dan Prospek untuk Percepatan Diversifikasi Pangan*. Kencana Prenada Media: Jakarta.

- Gerez, L.C. 2006. Gluten Breakdown by Lactobacili and Pediococci Strains Isolated from Sourdough. *Letters in Applied Microbiology*. 45(5): 459-464.
- Gianfreda, L. dan M. A. Rao. 2004. Potential of Extraceluler Enzyme in Remediation of Polluted Soil. *Enzyme Microbiology Technology Vol 2* (35): 339-354.
- Hardisari, R., & Amaliawati, N. 2016. Manfaat Prebiotik Tepung Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* formatypica) terhadap Pertumbuhan Probiotik Lactobacillus casei secara In Vitro. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, Vol. 5. No. 2, hal. 64-67.
- Hidayat, Beni. 2009. Karakteristik Tepung Ubi Kayu Modifikasi yang Diproses Menggunakan Metode Prigelatinisasi Parsial. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 14(2): 148-159.
- Hikmiyanti, N. 2009. Pembuatan bioetanol dari kulit singkong melalui hidrolisa asam dan enzimatis [skripsi]. [Semarang (Indonesia)]: Universitas Diponegoro.
- Holzapfe, W.H. *et al.*, 1998. Identification of Heterofermentative *Lactobacilli* isolated from Pig Faeces by Numerical Analysis of Total Soluble Cell Protein Pttterns and RAPD-PCR. *Letters in Apllied Microbiology*. Vol 37. No. 12.
- Jubaidah, S., Henny Nurhasnawati, Heri Wijaya. 2016. Penetapan Kadar Protein Tempe Jagung (*Zea mays* L.) dengan Kombinasi Kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1), 111-119.
- Judoamidjo, M.A. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Press: Jakarta.
- Karppinen, Sirpa. 2003. Dietary Fibre Components of Rye Bran and Their Fermentation in Vitro.
- Kemas, A. 1994. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Kuncoro DM. 1993. *Tanaman yang Mengandung Zat Pengganggu*. CV. Aamalia: Jakarta.
- Kurniati, Lina Ika *et al.* 2012. Pembuatan Mocaf (Modified Cassava Flour) dengan Proses Fermentasi Menggunakan Lactobacillus plantarum, Saccharomyces cerevisiae dan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1): 1-6.
- Kusumaningrum, Annisa dan Sumardiono Siswo. 2016. Perbaikan Sifat Tepung Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi Sawut Ubi Kayu dengan Starter Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 5(2): 31-33.
- Lokapirnasari, W.P., Oky Setyo Emy, K. 2018. Potensi Bakteri *Lactococcus sp.* dan *Lactobacillus sp.* untuk Peningkatan Kualitas Limbah Kulit Kacang

sebagai Alternatif Bahan Pakan. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol.1 no. 1.

- Mallesha., Shylaja, R., Selvakumar, D. J. H., 2010. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw and Fermented Products and Their Antibacterial Activity. *Rec. Res. Sci. Technol.* 2(6):42-46.
- Mayangsari, Cholivia. 2019. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap Karakteristik Tepung Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Terfermentasi. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Muchtadi, TR., Sugiyono. 1992. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. PAU IPB: Bogor.
- Muhibah, S. R. N. 2013. Uji Golongan senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah dari Petani Lobuk Madura. *Skripsi*. UIN Malang.
- Muwakhid, B. *et al.*, 2007. Pengaruh Penggunaan Inokulum bakteri Asam Laktat terhadap Kualitas Silase Limah Sayuran Pasar Sebagai Bahan Pakan. *J. Indon. Tropic. Agric.* Vol. 32. No. 2.
- Najgebauer-Lejko, D. E., Sade, M., Grega, T., Walczycka, M., 2011. The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *Intern. Dairy. J.* 21:568-574.
- Nasta'in, Laisa., Antuni Wiyarsi. 2019. Analisis Kadar dan Lama Perendaman Larutan Natrium Klorida (NaCl) dalam Detoksifikasi Asam Sianida (HCN) Pada Umbi Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst). *Jurnal Science Tech* Vol. 5, No. 1
- Novitasari, Erliana dan Ratna Wylis Arief. 2018. Analisis Karakteristik Kimia Tepung Kasava dari Ubikayu Varietas Klenteng dan Casessart (UJ5) Analysis of Chemical Characteristic of Casava Flour from Klenteng and Casessart (UJ5) Varieties. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* Vol. 18 (1)
- Ntelok, Eso *et al.*, 2017. Limbah Kulit Singkong (*Manihot esculenta* L.): Alternatif Olahan Makanan Sehat. *Jurnal Pangan dan Gizi*. Vo. 1. No. 1.
- Ofuya, C. O. And Obilor, S. N. 1993. The Suitability of Fermented Cassava Peel As A Poultry Feedstuff. *Bioresource Technology*. 44: 101-104.
- Pasaribu, T., A.P. Sinurat, T. Purwadaria, Supriyati dan H. Hamid. 1998. Peningkatan Nilai Gizi Lumpur Sawit Melalui Proses Fermentasi: Pengaruh Jenis Kapang, Suhu dan Lama Proses Enzimatis. *JITV* Vol 3(4): 237-242.
- Petrova, Penka *et al.*, 2013. Starch-Modifying Enzymes of Lactic Acid Bacteria- Structures, Properties, and Applications. *Biosynthesis Nutrition Biomedical*. Vol. 65. No. 1-2.

- Prabawati, S., Nur R., dan Suismono. 2011. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor: Institut Teknologi Nasional Malang.
- Prawitasari R.H, Ismadi, dan Estingingdriati. 2012. Kecernaan Protein Kasar dan Serat Kasar serta Laju Digesta pada Ayam Arab yang Diberi Ransum dengan Berbagai Level *Azolla microphylla*. *Animal Agriculture Journal*. Vol.1. No. 1.
- Purwati, Yeni *etal.*, 2016. Kadar Sianida Singkong Rebus dan Singkong Goreng. *Medical Laboratory Technology Journal*. Vol. 2. No. 2.
- Purwono dan Heni Purmawati. 2009. *Budidaya 8 Jenis Tanaman Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2013. Buletin Konsumsi Pangan. 4(1).
- Rachmadi, Andri Taruna. 2011. Pemanfaatan Fermentasi Rebung untuk Bahan Suplemen Pangan dan Tepung Serat. *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*. Vol.3. No. 1
- Rahmawati, A., 2010. Pemanfaatan Limbah Kulit Ubi Kayu (*Manihot utilissima* Pohl.) dan Kulit Nanas (*Ananas comusus L.*) pada Produksi Bioetanol menggunakan *Aspergillus niger*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret Surakarta. Surakarta.
- Rasulu, Hamidin., Sudarminto S. Yuwono., Joni Kusnadi. 2012. Karakteristik Tepung Ubi Kayu Karakteristik Tepung Ubi Kayu Terfermentasi Sebagai Bahan Pembuatan Sagukasbi. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 13 No. 1
- Retnowati, D.S., Andre C.K dan Sri B. 2010. Modifikasi Pati Ketela Pohon Secara Kimia dengan Oleoresin dari Minyak Jahe. *Jurnal Rekayasa Proses*. 4(1): 1-6.
- Richana, Nur. 2013. *Potensi Ubi Kayu dan Ubi Jalar*. Nuansa Cendikia: Bandung.
- Rukmana, R. 1997. *Ubi Kayu Budidaya Paskapanen*. Jakarta: Kanisius.
- Rukmana, Rahmat. 2001. *Ubi Jalar Budidaya dan Pasca Panen*. Penerbit Kanisius: Jakarta.
- Rukmana, Rahmat. 2002. *Usaha Tani Ubi Kayu*. Penerbit Kanisius: Jakarta.
- Salim, E. 2011. *Pemanfaatan Kulit Singkong Menjadi Tepung Mocaf Sebagai Pengganti Terigu*, Lily Publisher: Jakarta.
- Salminen, N.P., A. Wright. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. New York: Macel Dekker, Inc.
- Setiawan, D. 2015. Karakteristik Tepung Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus lamk*) Hasil Fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum*. [Skripsi]. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Jember. Hal 5-6.

- Seveline. 2018. *Pembuatan Tepung Mocaf dengan Menggunakan Bakteri Asam Laktat dan lamanya Perendaman*.
- Shah, N.P. 2001. Functional Foods from Probiotics and Prebiotics. *Journal Food Technology*. 55(11): 46-52.
- Siboro, R. 2016. *Reduksi Kadar Sianida Tepung Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz) melalui Perendaman Ubi Kayu dengan NaHCO₃, 53*.
- Silvira, Helda. 2014. Studi Pembuatan Brownies Stick Berbahan Dasar Tepung Ganyong (Canna Edulis Kerr) Sebagai Sumber Pangan Lokal Pengganti Tepung Terigu Ditinjau Dari Daya Terima Konsumen. Skripsi. Jurusan Manajemen Industri Katering. Fakultas Pendidikan Ilmu Pengetahuan Sosial. Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung: Tidak diterbitkan
- Sosroedirdjo, R.S. 1993. *Bercocok Tanam Ketela Pohon*. CV. Yasaguna: Jakarta.
- Subagio, A. 2006. Ubi Kayu, Substitusi Berbagai Tepung-Tepungan. *Food Review Indonesia*. April 2006.
- Subagio, A. 2008. Ubi kayu: Substitusi Berbagai Tepung-Tepungan. *Food Review*: 18-22.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 2007. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian Edisi keempat*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Syihab, Quraish.2002. *Tafsir Al-Mishbah Volume 10*. Jakarta: Lentera Hati
- Syihab, Quraish.2002. *Tafsir Al-Mishbah Volume 12*. Jakarta: Lentera Hati
- Tafsir Ibnu Katsir Jilid 1*.2006. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i
- Tafsir Ibnu Katsir Jilid 2*.2006. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i
- Tijani IDR, Jamal P, Alam MZ, Mirghani MES. 2012. Optimization of cassava peel medium to an enriched animal feed by the white rot fungi *Panus tigrinus* M609RQY. In *Food Res*.
- Triyani. 2007. Kualitas Bioetanol Limbah Tapioka Padat Kering dengan Penambahan Ragi dan H₂SO₄ pada Lama Fermentasi yang Berbeda. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Vincent, W. A. 1969. Algae for food and feed Proc. *Biochem*. 4: 45-47.
- Wahyuningsih, Sri Budi dan Haslina. 2011. Kajian Degradasi Asam Sianida pada Berbagai Metode Proses Pembuatan Tepung Mokaf. *Agromedia*. Vol. 29. No. 1.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malanh: Penerbit Universitas Muhammadiyah Press.
- Wargiono, J. 1979. *Ubi Kayu dan Cara Bercocok Tanam*. Bogor: Pusat Penelitian Tanaman Pangan.
- Warsito, Herman. 1995. *Pengantar Metode Penelitian*. Gramedia: Jakarta.

- Widodo, W. 2002. Bioteknologi Fermentasi Susu. Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Winarsunu, Tulus. 2012. *Statistik Dalam Penelitian Psikologi dan Penelitian*. Malang: UMM Press.
- Wizna, Y. R., Hafil, A., Abdi D. dan I.P. KOMPIANG. 2009. Improving the Quality of Tapioca by- Product (Onggok) as Poultry Feed through Fermentation by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Journal of Applied and Industrial Biotechnology in Tropical Region* Vol 2 (1): 1-5.
- World Food Programme Brochure. 2013. Bersama Membangun Ketahanan Pangan Indonesia.
- Zacharof, M.P., R.W Lovitt dan K. Ratanapongleka. 2012. Optimization of Growth Conditions for Intensive Propagation, grow development and Lactic acid Production of Selected Strains of *Lactobacillus*. Multidisciplinary Nanotechnology Center, Swansea University, United Kingdom.
- Zubaidah, Elok. 2006. Pengembangan Pangan Probiotik Berbasis Bekatul. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 7(2): 89-95.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Asam Sianida (HCN)

Perlakuan	Ulangan			rata-rata (%)
	1	2	3	
A₀B₁	0.486	0.491	0.489	0.489
A₀B₂	0.363	0.34	0.264	0.322
A₀B₃	0.242	0.23	0.208	0.227
A₁B₁	0.15	0.141	0.13	0.14
A₁B₂	0.125	0.123	0.137	0.128
A₁B₃	0.121	0.118	0.12	0.12
A₂B₁	0.116	0.113	0.112	0.114
A₂B₂	0.106	0.108	0.107	0.107
A₂B₃	0.094	0.101	0.097	0.097
A₃B₁	0.106	0.102	0.111	0.106
A₃B₂	0.098	0.101	0.096	0.098
A₃B₃	0.092	0.086	0.091	0.089

Lampiran 2. Hasil Uji Serat Kasar

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
A₀B₁	22.071	22.124	21.981	22.05867
A₀B₂	20.973	20.762	20.691	20.80867
A₀B₃	18.741	18.82	18.526	18.69567
A₁B₁	16.751	16.224	16.341	16.43867
A₁B₂	15.4783	15.4476	15.3316	15.41917
A₁B₃	15.2516	15.2266	14.221	14.89973
A₂B₁	14.8573	14.8178	14.6781	14.7844
A₂B₂	14.1689	14.3046	14.1635	14.21233
A₂B₃	13.062	12.981	12.762	12.935
A₃B₁	13.0662	13.0187	13.5506	13.21183
A₃B₂	12.8252	12.421	12.725	12.65707
A₃B₃	10.261	10.671	10.871	10.601

Lampiran 3. Hasil Uji Protein

Perlakuan	absorbansi			jumlah	rata2	Kadar protein (mg/100 g)
	1	2	3			
A₀B₁	1.2	1.26	1.196	3.656	1.218667	8.096788483
A₀B₂	1.24	1.22	1.21	3.67	1.223333	8.127796235
A₀B₃	1.25	1.24	1.22	3.71	1.236667	8.216389812
A₁B₁	1.355	1.36	1.354	4.069	1.356333	9.011517165
A₁B₂	1.367	1.376	1.37	4.113	1.371	9.1089701
A₁B₃	1.378	1.385	1.379	4.142	1.380667	9.173200443
A₂B₁	1.496	1.499	1.495	4.49	1.496667	9.943964563
A₂B₂	1.54	1.52	1.499	4.559	1.519667	10.09678848
A₂B₃	1.678	1.68	1.698	5.056	1.685333	11.19756368
A₃B₁	1.77	1.789	1.82	5.379	1.793	11.91295681
A₃B₂	1.92	1.94	1.98	5.84	1.946667	12.93399779
A₃B₃	2.136	2.15	2.149	6.435	2.145	14.25182724

Lampiran 4. Perhitungan

1. Kadar Asam Sianida

$$\text{HCN \%} = \frac{\left(\frac{\text{absorbance}}{\text{slop}}\right) \times \text{faktor pengencer}}{\text{berat sampel} \times 10^6} \times 100$$

$$= \frac{\left(\frac{0,106}{0,00397}\right) \times 100}{2 \times 10^6} \times 100$$

$$= \frac{4030,227}{2000000} \times 100$$

$$= 0,002015 \times 100$$

$$= 0,2015 \%$$

2. Kadar Serat Kasar

$$\% \text{ Serat kasar} = \frac{\text{berat serat (gr)}}{\text{berat sampel}} \times 100$$

$$= \frac{0,10485}{2} \times 100$$

$$= 0,20973 \times 100$$

$$= 20,973$$

3. Kadar Protein

Mencari nilai protein = mencari nilai x

$$0.1505x=y-0.0001$$

$$x=y-0.0001/0.1505$$

$$\text{Protein (mg/100g)} = \frac{y-0.0001}{0.1505}$$

$$= \frac{\text{rata-rata kadar protein}-0,0001}{0,1505}$$

$$= \frac{1.218667-0,0001}{0,1505}$$

$$= 8.096788$$

Lampiran 5. Hasil SPSS Uji Asam Sianida (HCN)

**Levene's Test of Equality of Error
Variances^a**

Dependent Variable: HCN

F	df1	df2	Sig.
7.753	11	24	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Kombinasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HCN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.484 ^a	11	.044	164.706	.000
Intercept	1.039	1	1.039	3891.884	.000
Kombinasi	.484	11	.044	164.706	.000
Error	.006	24	.000		
Total	1.529	36			
Corrected Total	.490	35			

a. R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .981)

		HCN							
		N	Subset						
	Kombinasi		1	2	3	4	5	6	
Duncan ^{a,b}	Konsentrasi 6% lama perendaman 120 jam	3	.0897						
	Konsentrasi 4% lama perendaman 120 jam	3	.0973	.0973					
	Konsentrasi 6% lama perendaman 72 jam	3	.0983	.0983					
	Konsentrasi 6% lama perendaman 24 jam	3	.1063	.1063					
	Konsentrasi 4% lama perendaman 72 jam	3	.1070	.1070					
	Konsentrasi 4% lama perendaman 24 jam	3	.1137	.1137	.1137				
	Konsentrasi 2% lama perendaman 120 jam	3	.1197	.1197	.1197				
	Konsentrasi 2% lama perendaman 72 jam	3		.1283	.1283				
	Konsentrasi 2% lama perendaman 24 jam	3			.1403				
	Konsentrasi 0% lama perendaman 120 jam	3				.2267			
	Konsentrasi 0% lama perendaman 72 jam	3					.3223		
	Konsentrasi 0% lama perendaman 24 jam	3						.4887	
	Sig.			.060	.052	.078	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.

Lampiran 6. Hasil Uji SPSS Serat Kasar

Levene's Test of Equality of Error

Variances^a

Dependent Variable: Serat_Kasar

F	df1	df2	Sig.
4.550	11	24	.001

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Kombinasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Serat_Kasar

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	386.042 ^a	11	35.095	564.965	.000
Intercept	8716.370	1	8716.370	140318.356	.000
Kombinasi	386.042	11	35.095	564.965	.000
Error	1.491	24	.062		
Total	9103.903	36			
Corrected Total	387.533	35			

a. R Squared = .996 (Adjusted R Squared = .994)

Serat_Kasar

	Kombinasi	N	Subset									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dunca n ^{a,b}	Konsentrasi 6% lama perendaman 120 jam	3	10.601									
	Konsentrasi 6% lama perendaman 72 jam	3		12.657								
	Konsentrasi 4% lama perendaman 120 jam	3		12.930	12.930							

Konsentrasi 6% lama perendaman 24 jam	3		13.210								
Konsentrasi 4% lama perendaman 72 jam	3		14.212								
Konsentrasi 4% lama perendaman 24 jam	3				14.784						
Konsentrasi 2% lama perendaman 120 jam	3				14.900						
Konsentrasi 2% lama perendaman 72 jam	3					15.419					
Konsentrasi 2% lama perendaman 24 jam	3						16.438				
Konsentrasi 0% lama perendaman 120 jam	3							18.695			
Konsentrasi 0% lama perendaman 72 jam	3								20.808		
Konsentrasi 0% lama perendaman 24 jam	3									22.057	
Sig.		1.000	.185	.186	1.000	.575	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .062.

Lampiran 7. Hasil SPSS Uji Protein

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar_Protein	Based on Mean	3.372	11	24	.006
	Based on Median	.811	11	24	.630
	Based on Median and with adjusted df	.811	11	6.808	.638
	Based on trimmed mean	3.102	11	24	.010
Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.					
a. Dependent variable: Kadar_Protein					
b. Design: Intercept + Kombinasi					

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Kadar_Protein					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.003 ^a	11	.273	824.230	.000
Intercept	84.392	1	84.392	254767.645	.000
Kombinasi	3.003	11	.273	824.230	.000
Error	.008	24	.000		
Total	87.403	36			
Corrected Total	3.011	35			
a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)					

		Kadar_Protein							
			Subset						
Kombinasi	N	1	2	3	4	5	6	7	
Duncan ^{a,b}	konsentrasi 0% lama perendaman 24 jam	3	1.21867						
	konsentrasi 0% lama perendaman 72 jam	3	1.22333						
	konsentrasi 0% lama perendaman 120 jam	3	1.23667						
	konsentrasi 2% lama perendaman 24 jam	3		1.35633					
	konsentrasi 2% lama perendaman 72 jam	3		1.37100					
	konsentrasi 2% lama perendaman 120 jam	3		1.38067					
	konsentrasi 4% lama perendaman 24 jam	3			1.49667				
	konsentrasi 4% lama perendaman 72 jam	3			1.51967				
	konsentrasi 4% lama perendaman 120 jam	3				1.68533			
	konsentrasi 6% lama perendaman 24 jam	3					1.79300		
	konsentrasi 6% lama perendaman 72 jam	3						1.94667	
	konsentrasi 6% lama perendaman 120 jam	3						2.14500	
	Sig.		.264	.134	.135	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = .05.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Faizatul Amanah
NIM : 13620110
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2020/2021
Pembimbing : Ir. Liliek Harianie AR, M.P
Judul Skripsi : **PENGARUH KONSENTRASI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei* DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA TEPUNG KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERFERMENTASI**

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD Pembimbing
1.	12 Oktober 2018	Konsultasi judul dan BAB I	H ₂
2.	19 Oktober 2018	Konsultasi Latar Belakang	H ₂
3.	06 November 2018	Revisi BAB I dan Konsultasi BAB III	H ₂
4.	23 November 2018	Revisi BAB I dan BAB III	H ₂
5.	12 November 2020	Konsultasi BAB III	H ₂
6.	23 Desember 2020	Konsultasi BAB IV dan V	H ₂

Malang, 25 Desember 2020

Pembimbing Skripsi

Ir. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901 199803

Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP-19741018 2003 12 2 002



KEMENTERIAN AGAMA

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

BUKTI KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Faizatul Amanah
NIM : 13620110
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2020/2021
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
Judul Skripsi : **PENGARUH KONSENTRASI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei* DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA TEPUNG KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERFERMENTASI**

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD Pembimbing
1.	27 Juni 2020	Konsultasi Ayat perkata Kunci Judul I	
2.	29 Juni 2020	Penambahan QS. 3:191	
3.	23 Desember 2020	Konsultasi Integrasi BAB IV	

Malang, 25 Desember 2020

Pembimbing Skripsi



Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512 20160801 1060



Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP-19741018 2003 12 2 002

