

**KEMAMPUAN *RHIZOPUS* UNTUK MENURUNKAN KANDUNGAN SIANIDA DAN MENINGKATKAN KANDUNGAN PROTEIN SINGKONG (*MANIHOT ESCULENTA CRANTZ*) (ABILITY OF *RHIZOPUS* TO DECREASE CYANIDE AND INCREASE PROTEIN CONTENT OF CASSAVA (*MANIHOT ECCULENTA CRANTZ*))**

Almasyhuri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Jakarta  
e-mail: almasyhuri@gmail.com

Diterima: 02-05-2013

Direvisi: 27-11-2013

Disetujui: 02-12-2013

**ABSTRACT**

*Rhizopus oligosporus* has been proven in reducing cyanogenic glucoside and increasing protein content of cassava which boiling and frying process can not do. However other *Rhizopus* strains are still unknown. The aim of the study was to determine the ability of three *Rhizopus* strains *R. oligosporus* MS5, *R.oryzae* F1, and *R. oryzae* EN in reducing cyanide and increasing protein content in bitter and sweet cassava fermentation added with nitrogen source. Cassavas was process to be flour. The flour was used as fermentation substrate by adding nitrogen or distilled water, then it was fermented with *R. oligosporus* MS5, *R.oryzae* F1, and *R. oryzae* EN in petri dish at 28<sup>0</sup>C for 30 hours. After fermentation, contentof water, cyanide and protein in the fermented substrate were performed. Three strains of mold have the same ability to decrease cyanide, but the ability to increase protein content were varied. Without adding nitrogen, protein content increased 5.4 and 2.5 foldby *R.oryzae* F1 fermentation and by *R. oryzae* EN respectively. The addition of nitrogen protein content in the substarte increased 6.0 fold by *R. oryzae* F1 , 8.6 by *R. oryzae* EN and 2 by MS5 *R.oligosporus*. Three *Rhizopus* strains showed in reducing cyanide and improve protein content of cassava

**Keywords:** bitter-cassava, cyanide, fermentation, protein, *Rhizopus* sp.

**ABSTRAK**

*Rhizopus oligosporus* terbukti dapat menurunkan kandungan sianida dan meningkatkan kandungan protein singkong tetapi strain lainnya belum diketahui. Penelitian ini menguji kemampuan *R. oligosporus* MS5, *R. oryzae* F1, dan *R. oryzae* EN dalam menurunkan kadar sianida dan meningkatkan kadar protein pada fermentasi substrat singkong. Singkong dibuat tepungdan hasilnya dibuat substrat fermentasi yang selanjutnya difermentasi dengan ketiga kapang dalam cawan petri pada suhu 28<sup>0</sup> C selama 30 jam. Kandungan air, sianida dan protein pada substrat dilakukan pada saat sebelum dan setelah difermentasi. Ketiga jenis kapang mempunyai kemampuan yang sama dalam penurunan kandungan sianida, tetapi kemampuan masing-masing kapang berbeda dalam meningkatkan kandungan protein. Tanpa penambahan sumber nitrogen, kapang *R.oryzae* F1 meningkatkan kandungan protein 5,4 kali dan *R. oryzae* EN 2,5 kali. Penambahan sumber nitrogen dapat meningkatkan kandungan protein, masing-masing kapang *R. oryzae* F1 meningkatkan kandungan protein 6,0 kali *R. oryzae* EN 8,6 kali dan *R. oligosporus* MS5 2 kali. Ketiga strain *Rhizopus*, yaitu *R. oligosporus* MS5, *R. oryzae* F1, dan *R. oryzae* EN dapat menghilangkan kandungan sianida dalam substrat singkong meningkatkan kandungan. Kemampuan *R. oryzae* EN dalam meningkatkan protein adalah paling tinggi, disusul *R. oryzae* F1, sedangkan kemamuan *R oligosporus* MS5 adalah yang paling rendah. Larutan sumber nitrogen yang ditambahkan pada substrat fermentasi *Rhizopus* dapat meningkatkan kadar protein [Penel Gizi Makan 2013, 36(2): 141-148]

**Kata kunci:** fermentasi, protein *Rhizopus*, singkong-pahit, sianida

## PENDAHULUAN

Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) atau dikenal dengan nama ketela pohon atau ubi kayu dapat dikelompokkan ke dalam dua jenis/varietas, yaitu singkong pahit dan singkong manis. Singkong pahit mengandung karbohidrat dan pati lebih tinggi dibanding singkong manis, tetapi kandungan asam sianidanya lebih tinggi dibandingkan dengan singkong manis, yaitu di atas 50 mg/kg. Singkong termasuk umbi-umbian yang berperan penting sebagai makanan pokok masyarakat Indonesia, karena merupakan sumber kalori terbesar ketiga setelah padi-padian dan jagung.<sup>1</sup> Singkong memiliki dua kekurangan sebagai bahan makanan, yaitu mengandung protein dalam jumlah yang sangat sedikit (1%)<sup>2</sup> dan asam sianida yang tinggi, yang dapat mengganggu kesehatan. Menurut FAO/WHO 1991 kandungan sianida yang diijinkan dalam makanan yang berasal dari singkong maksimal 1 mg/100 g.<sup>3</sup>

Glikosida sianogenik merupakan senyawa organik dalam singkong yang di dalam tubuh diubah menjadi sianida oleh bakteri usus, diserap masuk ke dalam darah, kemudian mengganggu sel saraf, dan dapat menimbulkan kematian pada konsentrasi 0,10m M-linamarin.<sup>4</sup> Senyawa toksik ini termasuk linamarin, di mana senyawa tersebut tidak bisa dihilangkan sama sekali pada proses pengolahan singkong secara tradisional, yaitu dengan direbus maupun digoreng.<sup>5</sup> Oleh karena itu upaya penurunan atau penghilangan sianida diperlukan untuk keamanan pangan. Hasil penelitian menggunakan satu varietas kapang *Rhizopus oligosporus* untuk fermentasi menunjukkan bahwa kapang tersebut dapat menurunkan kandungan sianida dan meningkatkan kandungan protein singkong pahit.<sup>6</sup> Hasil penelitian Purwisastra dan Yuniati,<sup>7</sup> mengemukakan penurunan kadar sianida dalam singkong pahit dapat dihilangkan dengan fermentasi cair menggunakan bakteri *Brevibacterium Lactofermentum* BL-1M76. Selain itu penurunan sianida dalam bahan pangan juga dapat dilakukan dengan proses perendaman, pengukusan dan perebusan.<sup>8</sup> Perendaman, pemasakan atau pengukusan dapat menurunkan sianida rebung bambu sekitar 50 persen. Pengirisan dan penjemuran panas matahari menurunkan 48,3 persen pengeringan dan perendaman dalam air tawar menurunkan 68,2 persen

asam sianida (HCN) dalam ubi hutan (*Dioscorea hispida* Dennst).<sup>9</sup>

Teknologi fermentasi adalah proses penyimpanan substrat dalam keadaan anaerob dengan menanamkan mikroba di dalamnya, dan menambahkan nutrisi seperti mineral, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Proses fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi terutama protein dan menurunkan jumlah serat kasar.<sup>10-11</sup> Agar pertumbuhan kapang selama fermentasi optimal, dapat dilakukan penambahan nitrogen dan mineral berupa amonium sulfat, urea, natrium dihidrogenfosfat, magnesium sulfat dan kalium klorida. Substrat diinokulasi selama 2-4 hari, tergantung jenis substrat yang digunakan. Selama inkubasi perlu diperhatikan suhu ruangan, karena suhu sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Tinggi rendahnya suhu selama inkubasi tergantung jenis mikroorganismenya. Pada proses fermentasi selain waktu dan suhu perlu juga diperhatikan kadar air substrat (45-55 persen).<sup>12</sup>

Kapang *Aspergillus niger* dapat digunakan untuk fermentasi Singkong dan dapat meningkatkan kadar protein dari 2,0 persen menjadi 23,4 persen.<sup>13</sup> Kapang *Rhizopus* sudah biasa digunakan dalam pembuatan tempe kedelai, namun penggunaannya untuk fermentasi dalam substrat singkong belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kemampuan tiga strain *Rhizopus* dalam menurunkan kadar sianida dan meningkatkan kadar protein pada fermentasi substrat singkong pahit dan singkong manis.

## METODE

Bahan yang digunakan adalah singkong pahit dan singkong manis. Singkong diperoleh dari koleksi tanaman milik Balai Penelitian Perkebunan di Bogor. Kapang yang digunakan adalah *Rhizopus oligosporus* MS5, *Rhizopus oryzae* F1 dan *Rhizopus oryzae* EN biakan dari laboratorium Mikrobiologi Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik, Bogor.

Bahan formulasi media yang digunakan adalah  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , urea dan aquadest, sedangkan untuk bahan analisis digunakan  $\text{AgNO}_3$ , KCNS dan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Merck).

Kapang *Rhizopus oligosporus* MS5, *Rhizopus oryzae* F1 dan *Rhizopus oryzae*

EN masing-masing ditumbuhkan pada agar-miring *Potatoes Dextrose Agar* (PDA) kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 8 hari. Spora dipanen menggunakan jarum ose dan ditambahkan 10 mL larutan NaCl fisiologis steril kemudian dikocok sampai rata. Larutan ini merupakan suspensi spora yang digunakan untuk penelitian.

Singkong pahit dan singkong manis dikupas kulitnya, dicuci dan diiris tipis, kemudian dikeringkan diatas nampan bambu dengan sinar matahari selama beberapa hari sampai kadar-air mencapai sekitar 10 persen. Setelah kering, singkong dihaluskan sehingga menjadi bentuk tepung. Analisis kadar sianida dan protein dilakukan pada sebelum dan sesudah pengeringan.

Tepung singkong pahit dan singkong manis masing-masing dibuat menjadi dua macam substrat fermentasi dengan menambahkan larutan sumber nitrogen atau aquadest sebanyak 40 mL. Masing-masing formula substrat diaduk rata sampai membentuk pasta sebagai substrat fermentasi lalu diinokulasi dengan 1 mL suspensi spora setiap 100 g substrat, kemudian masing-masing dipindahkan ke cawan petri, serta diinkubasi pada suhu 28°C sampai tumbuh miselium selama  $\pm$  30 jam. Larutan sumber nitrogen dibuat dari campuran 4,75 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 9,30 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan 2,3 g urea yang dilarutkan dengan *aquadest* sampai 100 ml.

Komposisi substrat adalah sebagai berikut :  
Substrat 1A : singkong pahit 100 g + 40 mL larutan sumber nitrogen  
Substrat 1B : singkong pahit 100 g + 40 mL aquadest  
Substrat 2A : singkong manis 100 g + 40 mL larutan sumber nitrogen  
Substrat 2B : singkong manis 100 g + 40 mL aquadest

Analisis substrat dilakukan sebelum dan sesudah fermentasi, setiap analisis dilakukan secara duplo. Penetapan kadar-air dilakukan dengan cara Gravimetri yaitu pengeringan menggunakan oven pada suhu 105°C sampai diperoleh bobot tetap.<sup>14</sup>

Kadar sianida ditetapkan dengan cara argentometri. Sianida didestilasi uap, distilat ditampung dalam larutan  $\text{AgNO}_3$  berlebih, sisa  $\text{AgNO}_3$  kemudian dititar dengan larutan kalium thiosianat (KCNS). Prinsip analisa sianida adalah argentometri menurut metoda Volhard. Ion  $\text{Ag}^+$  ditambahkan berlebih dalam bentuk  $\text{AgNO}_3$ . Kelebihan ion  $\text{Ag}^+$  dititar dengan larutan (KCNS) membentuk senyawa  $\text{AgCNS}$  yang berwarna merah bata.<sup>15-16</sup>

Kadar protein ditetapkan dengan metoda Biuret,<sup>17</sup> karena metoda ini didasarkan ikatan peptida, bukan nitrogen total. Apabila menggunakan nitrogen total (metoda Kjeldahl), maka nitrogen yang ditetapkan tidak hanya yang berasal dari protein tetapi juga nitrogen dan senyawa sianida (CN). Contoh yang sudah ditumbuk ( $\pm$ 3 g) ditambah *aquadest* hingga volume menjadi 50 mL secara kuantitatif, lalu ditambah 1 mL larutan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  5 persen dan dikocok. Warna biru yang terbentuk dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 555 nm.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), sebagai variable bebas adalah jenis kapang dan substrat, dan sebagai variabel terikat adalah kadar air, asam sianida dan protein. Kadar air, asam sianida dan protein dari dua kali penentuan kemudian dirata-rata.

## HASIL

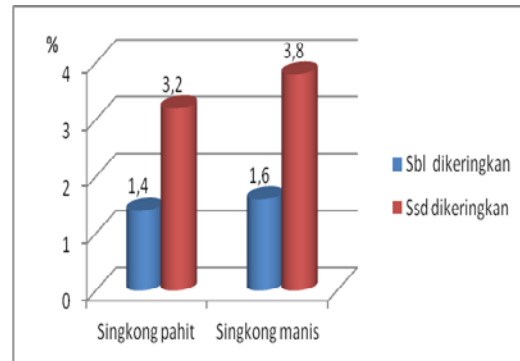
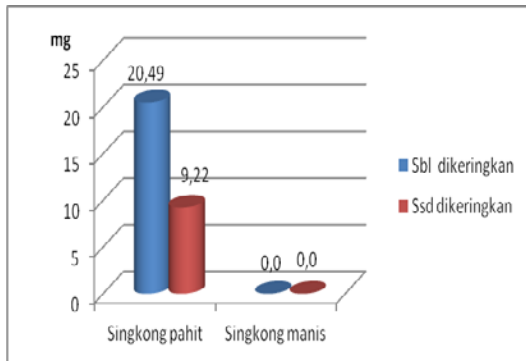
Gambar 1 menunjukkan hasil analisis kadar sianida singkong-pahit dan singkong-manis sebelum dan sesudah pengeringan. Singkong-pahit sebelum proses pengeringan mengandung 20,49 mg sianida / 100 g dan setelah pengeringan menjadi 9,22 mg/100 g. Terjadi penurunan sianida sebesar 11,27 mg per 100 g bobot kering atau sekitar 50 persen. Singkong manis sebelum dan sesudah pengeringan tidak terdeteksi adanya kandungan sianida.

Gambar 2 menunjukkan hasil analisis protein singkong pahit dan singkong manis sebelum dan sesudah pengeringan. Terjadi pemekatan kadar protein setelah pengeringan, karena adanya penguapan air bahan. Protein meningkat dari 1,38 persen menjadi 3,2 persen pada singkong pahit dan dari 1,6 persen menjadi 3,8 persen pada singkong manis berdasarkan bobot kering.

Hasil analisis kadar air substrat singkong-pahit dan singkong-manis sebelum dan sesudah difermentasi dengan tiga jenis kapang dapat dilihat pada Tabel 1. Dalam tabel dapat terlihat bahwa fermentasi dengan ketiga strain *Rhizopus* dapat menurunkan kadar air semua substrat singkong. Rata-rata penurunan kadar air pada substrat singkong yang difermentasi dengan *R. oligosporus* MS5 adalah paling besar (8,13 $\pm$ 4,94%), disusul penurunan kadar air setelah dilakukan fermentasi dengan *R. oryzae* F1 sebesar 7,17 $\pm$ 2,31%, sementara fermentasi dengan *R. Oryzae* EN

paling kecil menurunkan kadar air, yaitu sebesar  $4,18 \pm 1,94\%$ . Hasil uji dengan Anova penurunan kadar air tersebut memiliki nilai  $P = 0,270$  pada  $\alpha = 0,05$ ,

sehingga perbedaan nilai penurunan kadar air yang diakibatkan oleh ketiga jenis *Rhizopus* tersebut tidak bermakna .



**Gambar 1**  
Kadar Asam Sianida Singkong Sebelum dan Sesudah Pengeringan

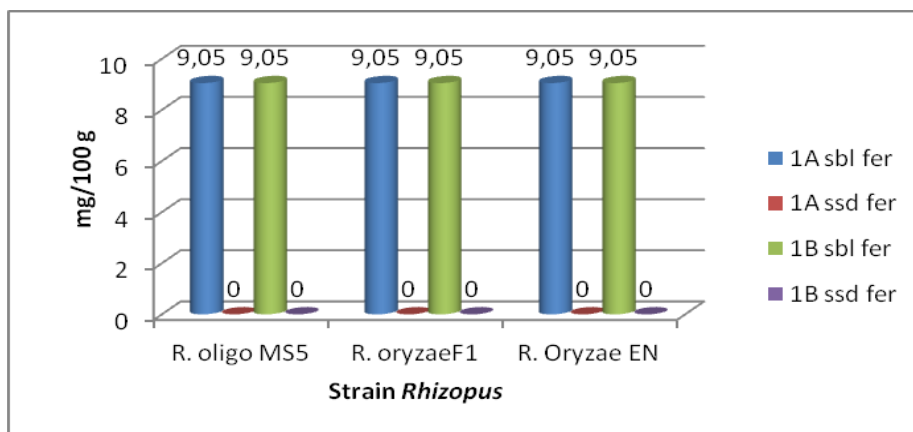
**Gambar 2**  
Kadar Protein Singkong Sebelum dan Sesudah Pengeringan

**Tabel 1**  
Persentase Kadar Air Substrat pada Sebelum dan Sesudah Fermentasi

Substrat	<i>R. oligo MS-5</i>			<i>R. oryzae F1</i>			<i>R. oryzae EN</i>		
	Sbl	Ssd	Penurunan	Sbl	Ssd	Penurunan	Sbl	Ssd	Penurunan
1A	48,37	44,21	4,16	48,29	42,01	6,28	48,7	46,21	2,49
2A	48,17	46,1	2,07	48,52	44,2	4,32	48,46	45,2	3,26
1B	53,24	45,11	8,13	53,48	44,21	9,27	53,05	49,01	4,04
2B	53,37	45,2	8,17	54,11	45,29	8,82	53,04	46,1	6,94
<b>Rata-rata</b>			<b>8,13 ± 4,94</b>			<b>7,17 ± 2,31</b>			<b>4,18 ± 1,94</b>

Keterangan : 1 A = Substrat Singkong pahit + lar nitrogen  
2 A = Substrat Singkong manis + lar nitrogen

1 B = Substrat Singkong pahit + aquadest  
2 B = Substrat Singkong manis + aquadest



Keterangan : 1 A sbl fer = Sustrat (Singkong pahit + lar nitrogen) sebelum fermentasi  
1A Ssd fer = Sustrat (Singkong pahit + lar nitrogen) sesudah fermentasi  
1B Sbl fer = Sustrat (Singkong pahit + aquadest) sebelum fermentasi  
Ssd fer = Sustrat (Singkong pahit + aquadest) sesudah fermentasi

**Gambar 3**  
Kadar Sianida dalam Substrat Singkong Pahit Sebelum dan Sesudah Fermentasi

Gambar 3 menunjukkan hasil analisis kadar sianida singkong pahit sebelum dan sesudah fermentasi. Kandungan sianida sebelum fermentasi adalah 9,05 mg menurun menjadi 0 mg per 100 g pada semua substrat sesudah fermentasi. Ketiga kapang *Rhizopus* mampu menghilangkan kandungan sianida singkong pahit. Substrat singkong manis tidak dilakukan analisis kandungan sianida karena sudah tidak mengandung sianida.

Peningkatan kadar protein tampak pada substrat singkong pahit dan manis sesudah difermentasi oleh *Rhizopus*, baik yang ditambah larutan nitrogen maupun aquadest (Tabel 2). Rata-rata peningkatan kadar protein substrat 1A (308,2%) lebih tinggi dibandingkan substrat 1B (182,1%), sedangkan peningkatan protein substrat 2A (319,5%) lebih tinggi dibandingkan substrat 2B (207,1%). Hasil uji Anova menunjukkan bahwa perbedaan peningkatan kadar protein dalam substrat tersebut tidak bermakna ( $P=0,831$  pada  $\alpha=0,05$ ). Hal ini berarti penambahan larutan nitrogen pada substrat singkong tidak meningkatkan kadar protein secara bermakna

Tabel 3 menunjukkan ketiga strain *Rhizopus* yang digunakan untuk fermentasi substrat singkong pahit dan manis dapat

meningkatkan kandungan protein. *R. oryzae* F1 menghasilkan peningkatan protein paling tinggi (396,6%), disusul *R. oryzae* EN (320,4%) dan yang paling kecil adalah peningkatan protein yang diakibatkan oleh strain *R. oligosporus* MS5 (45,7%). Hasil uji Anova ketiga strain *Rhizopus* menghasilkan perbedaan peningkatan kadar protein dalam substrat secara bermakna ( $P=0,014$  pada  $\alpha=0,05$ ). Hal ini berarti ketiga strain *Rhizopus* mempunyai kekuatan yang berbeda dalam meningkatkan kadar protein substrat singkong.

## BAHASAN

Preparasi sampel dilakukan dengan pengupasan, pencucian dan pengeringan. Pengeringan bertujuan untuk memperpanjang daya simpan sampel sebelum dibuat substrat. Bahan kering akan lebih tahan disimpan dibandingkan dengan bahan segar, hal ini karena pada bahan kering terjadi penurunan aktivitas air, serta penghambatan pertumbuhan bakteri dan aktivitas enzim. Pengeringan dilakukan sampai kadar air dibawah batas minimum dimana mikroba dapat tumbuh, yaitu 14-15 persen.<sup>18</sup> Rata-rata kadar air singkong pahit dan singkong manis hasil pengeringan adalah berkisar 10,0 persen.

**Tabel 2**  
**Persentase Kenaikan Protein dari Beberapa Substrat Singkong yang Difermentasi dengan *Rhizopus***

Strain	Substrat	Persen Protein		Kenaikan (%)
		Sebelum	Sesudah	
R. oligo MS5	1 A	4,2	8,5	102,4
R.oryzae F1	1 A	3,1	18,8	506,5
R.Ooryzae EN	1 A	3,8	15,8	315,8
Rata-rata				<b>308,2</b>
R. oligo MS5	1 B	3,8	4,5	18,4
R.oryzae F1	1 B	3,1	17,0	448,4
R.Ooryzae EN	1 B	3,4	6,1	79,4
Rata-rata				<b>182,1</b>
R. oligo MS5	2 A	2,9	3,5	20,7
R.oryzae F1	2 A	2,1	12,1	476,2
R.Ooryzae EN	2 A	2,6	14,6	461,5
Rata-rata				<b>319,5</b>
R. oligo MS5	2 B	3,4	4,8	41,2
R.oryzae F1	2 B	2,9	7,4	155,2
R.Ooryzae EN	2 B	2,4	12,6	425,0
<b>Rata-rata</b>				<b>207,1</b>

Keterangan : 1 A = Substrat Singkong pahit + lar nitrogen, 1 B = Substrat Singkong pahit + aquadest, 2 A = Sustrat Singkong manis + lar nitrogen, 2 B = Sustrat Singkong manis + aquadest

**Tabel 3**  
**Persentase Kenaikan Protein Substrat Singkong**  
**yang Difermentasi dengan Strain *Rhizopus***

Strain	Substrat	Persen Protein		Kenaikan (%)
		Sebelum	Sesudah	
R. oligo MS5	1 A	4,2	8,5	102,4
R. oligo MS5	1 B	3,8	4,5	18,4
R. oligo MS5	2 A	2,9	3,5	20,7
R. oligo MS5	2 B	3,4	4,8	41,2
Rata-rata				<b>45,7</b>
R.oryzae F1	1 A	3,1	18,8	506,5
R.oryzae F1	1 B	3,1	17,0	448,4
R.oryzae F1	2 A	2,1	12,1	476,2
R.oryzae F1	2 B	2,9	7,4	155,2
Rata-rata				<b>396,6</b>
R.oryzae EN	1 A	3,8	15,8	315,8
R.oryzae EN	1 B	3,4	6,1	79,4
R.oryzae EN	2 A	2,6	14,6	461,5
R.oryzae EN	2 B	2,4	12,6	425,0
<b>Rata-rata</b>				<b>320,4</b>

Keterangan : 1 A = Substrat Singkong pahit + lar nitrogen, 1 B = Substrat Singkong pahit + aquadest,  
 2 A = Substrat Singkong manis + lar nitrogen, 2 B = Substrat Singkong manis + aquadest

Pengeringan dengan sinar matahari terbukti dapat menurunkan kandungan sianida dalam singkong. Dari analisis sianida menunjukkan bahwa singkong pahit segar mengandung 20,49 mg/100 g bahan kering. Setelah dilakukan pengeringan dengan sinar matahari sianida turun menjadi 9,22 mg/100 g bahan kering atau penurunan 55,1 persen, sementara singkong-manis tidak terdeteksi adanya sianida. Penurunan sianida dalam singkong pahit pada penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan pengeringan dioscorea yang dilakukan oleh Aman,<sup>9</sup> yang menyimpulkan adanya penurunan sianida sebesar 48,3 persen. Kadar sianida dalam singkong pahit segar dalam penelitian ini tidak jauh berbeda bila dibandingkan dengan hasil penelitian Askurrahman,<sup>19</sup> yang menyimpulkan kandungan sianida umbi singkong (*Manihot esculenta crantz*) sebesar 20,85 mg/100 g. Singkong pahit yang digunakan dalam penelitian ini termasuk beracun kuat, karena menurut Hastini singkong yang memiliki kadar HCN > 10 mg/100 g dikelompokkan kedalam singkong sangat beracun.<sup>20</sup> Singkong yang mengandung HCN yang tinggi sering digunakan untuk keperluan industri. Keuntungan singkong pahit bagi industri karena mengandung pati lebih banyak dibandingkan dengan singkong manis.

Kandungan sianida dalam singkong pahit mengalami penurunan 100 persen

akibat fermentasi menggunakan *Rhizopus* pada substrat 1A dan 1B. Penurunan sianida tersebut diakibatkan karena asam sianida dalam singkong yang berada dalam bentuk ikatan glikosida terhidrolisis dan terurai menjadi glukosa, aseton dan HCN.<sup>21</sup>

Kemampuan ketiga jenis kapang *Rhizopus oligosporus* MS5, *Rhizopus oryzae* F1 dan *Rhizopus oryzae* EN dalam menurunkan senyawa sianida singkong pahit adalah sama. Kadar sianida substrat 1A dan substrat 1B pada saat sebelum fermentasi adalah 9,05 mg per 100 g bahan bobot kering setelah fermentasi dengan ketiga strain *Rhizopus* semua substrat tidak terdeteksi adanya senyawa sianida. Hasil penelitian ini hampir sama dengan penelitian yang dilakukan Purawisastra,<sup>6</sup> yang menggunakan satu jenis kapang *Rhizopus oryzae* untuk menurunkan kandungan sianida dalam empat jenis singkong pahit, hasil fermentasi menunjukkan kemampuan kapang ini dalam menghilangkan sianida dalam singkong-pahit, dan hasil penelitian lain menunjukkan bahwa fermentasi kapang strain *Rhizopus stolonifer* LAU 07 pada substrat singkong menurunkan sianida sebesar 90,6 persen.<sup>22</sup>

Ketiga strain *Rhizopus* dapat meningkatkan kandungan protein pada substrat singkong pahit maupun substrat singkong manis, namun kemampuannya bervariasi. Kemampuan kapang *R. oryzae*

F1 dan *R.oryzae* EN dalam meningkatkan protein pada substrat singkong berturut-turut adalah 396,6 persen dan 320,4 persen, keduanya lebih besar dibandingkan dengan *R. oligosporus* MS5 (45,7%). Hasil uji Anova menunjukkan bahwa peningkatan protein yang oleh fermentasi *R. oryzae* F1 dan *R.oryzae* EN tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ), sementara bila dibandingkan dengan peningkatan protein yang dihasilkan oleh *R. oligosporus* MS5 perbedaan tersebut cukup bermakna ( $P <0,05$ ). Kemampuan kapang *R.oryzae* F1 dan *R.oryzae* EN dalam meningkatkan protein pada penelitian ini lebih besar dari pada kemampuan fermentasi oleh *Rhizopus oryzae* L 16 pada substrat limbah padat singkong hanya meningkat 2,5 kali lipat.<sup>23</sup> Fermentasi selain dapat meningkatkan zat gizi protein substrat, juga meningkatkan kadar asam amino. Hal ini berdasarkan penelitian Almasyhuri sebelumnya bahwa biakan murni *R. oligosporus* dan Laru tradisional mampu meningkatkan kadar asam amino sekitar 2,5 kali, serta memperbaiki skor kimia dari protein singkong.<sup>24</sup>

Penambahan larutan sumber nitrogen 40 mL per 100 g pada substrat singkong (singkong pahit dan singkong manis) dan difermentasi dengan *Rhizopus* hanya menghasilkan protein sedikit lebih tinggi dibandingkan substrat yang ditambah dengan aquadest, tetapi perbedaannya tidak bermakna ( $P>0,05$ ). Artinya pertumbuhan miselium *Rhizopus* pada substrat yang ditambah nitrogen tidak berbeda dengan yang hanya ditambah aquades. Hal ini dimungkinkan karena penambahan amonium sulfat yang berlebihan sehingga akan menurunkan pH substrat akibatnya akan mengganggu pertumbuhan miselium *Rhizopus*. Efektifitas nitrogen dalam peningkatan pertumbuhan miselium tergantung pada bentuk senyawanya, nitrogen urea lebih baik dibandingkan dengan amonium sulfat, dalam meningkatkan pertumbuhan miselium *A. brasiliensis*. Penelitian menyimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ammonium sulfat akan menyebabkan pertumbuhan *A. brasiliensis* terganggu, karena terjadi perubahan pH dalam media kultur.<sup>25</sup>

## KESIMPULAN

Fermentasi dengan ketiga jenis kapang *Rhizopus oligosporus* MS5, *R. oryzae* F1 dan *R. oryzae* EN dapat menghilangkan kandungan sianida substrat

dari tepung singkong pahit dan dapat meningkatkan kandungan protein pada substrat singkong pahit dan singkong manis. Kemampuan ke 3 jenis kapang *Rhizopus* dalam peningkatan protein singkong bervariasi. Kapang *R. oryzae* EN dan *R. oryzae* F1 sama-sama mampu meningkatkan protein lebih besar dibandingkan dengan kapang *R. oligosporus* MS5, tetapi kemampuan kapang *R. oryzae* F1 lebih baik dibandingkan *R. oryzae* EN.

Larutan sumber nitrogen yang ditambahkan pada substrat singkong pahit atau singkong manis kurang dapat menghasilkan peningkatan kandungan protein secara nyata bila dibanding dengan substrat yang hanya di tambah dengan aquadest.

## SARAN

Untuk mengetahui kualitas protein maka disarankan untuk meneliti jenis protein hasil proses fermentasi substrat singkong dengan metode elektroforesis dan uji mutu protein (PER) serta uji toksisitas dengan hewan coba.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sangat tinggi disampaikan kepada Drs. Erwin Affandi dari Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik yang telah membantu analisis di laboratorium dan memberikan saran-saran sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

## RUJUKAN

1. Indonesia, Biro Pusat Statistik (BPS), Konsumsi kalori dan protein penduduk Indonesia dan propinsi. Jakarta: Biro Pusat Statistik, 2003.
2. Persatuan Ahli Gizi Indonesia (Persagi). Tabel komposisi pangan Indonesia. Jakarta: PT Gramedia, 2009.
3. Iglesias CA, Sanchez T, and Yeoh HH. Cyanogens and Linamarase Activities in Storage Roots of Cassava Plant from Breeding Program. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2002; 15:379-387.
4. Sreeja VG, Nagaraha NLO, Minami M. New aspect in pathogenesis of konzo: neural cell damage directly linamarin contained in cassava (*Manihot*

- esculenta* Crantz). *The British Journal of Nutrition*. 2003;90:467-472
5. Mkpong OE, Yan H, Chism G, and Sayre RT. Purification Characterization, and Localization of Linamarase in Cassava. *J Plant Physiol*. 1990;93:176-181
  6. Purawisastra S dan Yuniati H. Detoksifikasi dan peningkatan kadar protein singkong pahit. *Penel Gizi Makan*. 1997;20:134-141.
  7. Purawisastra S, Yuniati H. Penurunan kadar sianida dalam singkong pahit pada proses fermentasi cair bakteri *Brevibacterium Lactofermentum* BL-1M76. *Penel Gizi Makan*. 2004; 27:17-23
  8. Prastyo DH, Triaji W. Penurunan Sianida Umbi Gadung dengan Proses Leaching dan Pengukusan sebagai Bahan Dasar Tepung. *Technical Report*. Diponegoro University. 2011
  9. Aman LO. Efektifitas penjemuran dan perendaman dalam air tawar untuk menurunkan kandungan toksik HCN ubi hutan (*dioscorea hispida dennst*). [cited 2013 Juni 10]. Available from: [ejurnal.fikk.ung.ac.id/index.php/NJ/article/download/42/13](http://ejurnal.fikk.ung.ac.id/index.php/NJ/article/download/42/13).
  10. Ghanem KM, EL-Refai AH, EL-Gazaerly MA. Protein enriched feedstuff from beet pulp. *World J. Microbiol Biotechnol*. 1991;7:365-71.
  11. Pasaribu T. Produk Fermentasi Limbah Pertanian Sebagai Bahan Pakan Unggas di Indonesia. *Wartazoa*. 2007;17:109-116.
  12. Supriyati, Pasaribu T, Hamid H dan Sinurat A. Fermentasi bungkil inti sawit secara substrat padat dengan menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 1998;3:165-170.
  13. Kompiang IP, Sinurat AP, Kompiang S, Purwadaria T, Darma J. Nutritional value of protein enriched cassava: cassapro. *Ilmu dan Peternakan*. 1994; 7:22-25.
  14. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official methods of analysis 18th edition. Virginia: Sidney Williams, 2005.
  15. Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis 14th edition. Virginia: Sidney Williams, 1984.
  16. Vogel AI. Buku teks analisis anorganik kualitatif makro dan semi mikro. edisi kelima. Jakarta: PT Kalman Media Pustaka, 1979.
  17. Mitchell DA, Gumbira SDAE, Greenfield PF, Doelle HW. Protein measurement in solid - state fermentation *Biotechnology Techniques*.1991;5:437-441.
  18. Fellow P. Food Processing technology principle & practice 2<sup>th</sup>, edition. England: Woodhead Publishing and CRC Press, 2002.
  19. Askurrahman, Isolasi dan Karakterisasi linamarase hasil isolasi dari umbi singkong (*manihot esculenta crantz*). *Agrointek*. 2010;4:138-145
  20. Husniati. Memilih singkong aman dimakan. 2010 Januari [cited: 2013 Juni 12]. Available from: [www.radarlampung.co.id](http://www.radarlampung.co.id).
  21. Djazuli M, Bradbury H. Cyanogen content of cassava roots and flour in Indonesia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.1999;65:523-535.
  22. Lateef A, Oloke JK, Kana G, Oyenivi EB, Onfade SO, *et al*, Improving the quality of agro-waste by solid-state fermentation: enhanced antioxidant activities and nutritional qualities. *Journal of Microbiology and Biotechnology*.2008;24:2369-2374.
  23. Tanuwidjaja L, Anah L. Protein enrichment of cassava solid waste by solid substrate fermentation. *Tempe Newsletter*. 1987;1:4.
  24. Almasyhuri, Ridwan E, Yuniarti H, Hermana. Pengaruh fermentasi terhadap kandungan protein dan komposisi asam amino dalam singkong. *Penel Gizi Makan*. 1999; 22:55-61.
  25. Mantovani TRD, Linde GA, Colauto NB. Effect of the addition of nitrogen sources to cassava fiber and carbon-to-nitrogen ratios on *Agaricus brasiliensis* growth. *Canadian Journal of Microbiology*. 2007;53 :139-43.