

DETOKSIFIKASI DAN PENINGKATAN KADAR PROTEIN SINGKONG PAHIT

Oleh: Suryana Purawisastra; Erwin Affandi;
Almasyhuri dan Rossi R. Apriyanto

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk detoksifikasi serta peningkatan kadar protein singkong pahit dengan proses fermentasi menggunakan kapang *rhizopus oryzae*. Penelitian ini dilaksanakan karena cara detoksifikasi yang biasa dilakukan masyarakat, yaitu melalui perendaman dan perebusan yang berulang, hanya dapat menghilangkan zat racun sebesar 50%. Bahkan terjadi pengurangan kadar zat gizi yang terkandung singkong. Pemanfaatan singkong pahit sebagai bahan pangan yang aman untuk dikonsumsi terbatas hanya sebagai bahan pembuatan taploka. Padahal jenis singkong ini mengandung pati yang lebih banyak daripada singkong biasa. Selain itu produksi singkong di Indonesia mencapai peringkat ke-3 setelah Brasil dan Thailand. Pada penelitian ini dilakukan cara detoksifikasi menggunakan mikroorganisme, yang selain mampu menghilangkan zat racun juga dapat meningkatkan protein singkong. Caranya, singkong terlebih dahulu dikeringkan di bawah sinar matahari hingga tercapai kadar air sekitar 10%. Setelah kering, singkong dijadikan tepung. Tepung singkong kemudian ditambah air dalam perbandingan (w/v) 1:1 untuk diperadapkan sebagai substrat fermentasi, yang diaduk hingga terbentuk pasta. Pasta singkong diinokulasi dengan suspensi spora kapang *rhizopus oryzae* dalam perbandingan (w/v) 1:10, setelah dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri. Cawan petri, kemudian inkubasikan pada suhu 28° C, hingga tampak pertumbuhan miselium (+ 30 jam). Hasil fermentasi dikeringkan dan ditumbuk hingga berbentuk tepung. Jenis singkong pahit yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari kebun percobaan Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan dan jenisnya diketahui yaitu jenis singkong Adira II, Adira IV, 46.8 dan 39.1-1, dengan kandungan sianida masing-masing sebesar 15.57 mg, 5.61 mg, 10.02 mg dan 24.67 mg per 100 g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan sianida setelah fermentasi terhadap ke-4 jenis singkong pahit tersebut adalah bervariasi untuk setiap jenis singkong pahit. Singkong pahit Adira IV penurunan sianidanya dapat mencapai 100%, kemudian 87% untuk jenis Adira II dan jenis 46.8, serta 18% untuk jenis 39.1.1. Sedangkan peningkatan kadar protein setelah fermentasi sebesar 2 kali untuk jenis singkong 39.1.1, 0.88 kali untuk singkong Adira II, 0.56 kali untuk singkong Adira IV, dan 0.48 untuk singkong jenis 46.8. Dengan demikian melalui cara detoksifikasi yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghilangkan kadar sianida singkong-pahit 18%-100%, serta meningkatkan protein antara 0.5- 2 kali.

Pendahuluan

Singkong pahit adalah jenis singkong yang mengandung senyawa sianida dalam kadar yang dikategorikan dapat mengakibatkan keracunan bagi yang mengkonsumsinya (1), yaitu di atas 5 mg per 100 g (2). Karena itu, jenis singkong ini sering disebut singkong beracun.

Keberadaan senyawa sianida tidak hanya pada singkong pahit, singkong biasa yang dikonsumsi dan tanaman lain juga mengandung senyawa ini, tetapi kadarnya lebih rendah daripada yang terkandung dalam singkong pahit. Senyawa ini dalam tanaman secara alami sebagian besar terikat dengan senyawa sakarida, baik berupa mono- maupun polisa-karida dengan bentuk glukosida sianogenik (1, 2).

Beberapa mikroorganisme tertentu memiliki kemampuan mengurai senyawa glukosida sianogenik tersebut, yaitu mikroorganisme yang menghasilkan enzim β -

glukosidase, nitril hidratase dan amidase di dalam sistim metabolismenya (3), diantaranya adalah kapang rhizopus (4). Kapang ini selain mampu mengurai senyawa sianogenik, juga menghasilkan enzim glukamilase (5). Dengan demikian hasil fermentasinya terhadap singkong pahit mentah dapat menurunkan kadar sianida aerta meningkat kandungan protein.

Makalah ini menyajikan hasil penelitian detoksifikasi dan peningkatan protein singkong pahit menggunakan starin kapang rhizopus lokal.

Penelitian ini dilakukan mengingat pemanfaatan singkong pahit sebagai bahan pangan, selama ini hanya digunakan sebagai bahan pembuatan tapioka (6). Padahal jenis singkong ini memiliki umbi yang besar (gemuk), umbinya tersusun rapat, tidak bertangkai dan mengandung pati yang lebih banyak daripada singkong biasa yang tidak pahit (7). Cara menghilangkan zat racun dalam singkong pahit atau dalam bahan makanan lain yang biasa dilakukan masyarakat adalah melalui perendaman dan perebusan yang berulang. Menurut hasil penelitian Nijholt (6) melaporkan bahwa senyawa sianida dalam singkong yang diolah seperti itu hanya dapat hilang sebesar 50%. Di samping itu, cara ini memungkinkan akan terjadinya kehilangan zat gizi yang terkandung dalam singkong.

Sebagai bahan makanan, singkong merupakan sumber kalori terbesar ke-2 setelah beras (8). Selain itu singkong merupakan salahsatu tanaman yang mudah tumbuh, walaupun ditanam di tanah yang tandus, masih dapat memberikan hasil, tetapi kandungan proteinnya rendah (9).

Produksi singkong di Indonesia setiap tahunnya tidak banyak berubah, yaitu 15.8 juta ton di tahun 1990, 15.9 juta ton di tahun 1991 dan 16.5 juta ton di tahun 1992 (10). Dalam percaturan dunia, produksi singkong di Indonesia menduduki peringkat ke-3 setelah Brazil dan Thailand (8).

Bahan dan Cara

Pada penelitian ini digunakan 4 jenis singkong pahit yang diperoleh dari kebun percobaan Balitbio (Balai Penelitian Bioteknologi) Tanaman Pangan Departemen Pertanian, Muara, Bogor. Ke-4 jenis singkong tersebut disebut Adira II, Adira IV, 46.8, dan 39-1-1.

Proses yang digunakan untuk detoksifikasi dan peningkatan protein dalam penelitian ini adalah dengan proses fermentasi padat dari substrat tepung singkong mentah, dalam cawan petri. Mikroorganisme yang digunakan adalah kapang rhizopus yang tersedia di laboratorium mikrobiologi Puslitbang Gizi Bogor, yaitu rhizopus oryzae EN.

Preparasi substrat singkong

Ubi singkong tanpa kulit diiris tipis, kemudian dikeringkan di atas nampan bambu di bawah sinar matahari di udara terbuka selama beberapa hari hingga kadar air singkong sekitar 10%. Setelah kering, singkong ditumbuk menjadi tepung dan digunakan sebagai bahan baku pembuatan substrat fermentasi.

Preparasi inokulum fermentasi

Kapang *rhizopus oryzae* EN yang tersedia di laboratorium mikrobiologi Puslitbang Gizi, terlebih dahulu dimudakan dengan cara membiakkan pada media pada PDA (Potato Dektrose Agar). Kemudian inkubasi pada suhu 28° C selama sekitar 8 hari untuk menghasilkan spora.

Spora yang dihasilkan (berwarna hitam) kemudian dipanen dengan menggunakan kawat Ose, dimasukkan ke dalam larutan salin yang mengandung 0.01% larutan Tween 80. Suspensi spora kemudian dikocok.

Fermentasi

Tepung singkong pahit kemudian dipersiapkan sebagai substrat fermentasi dengan mencampurkan air ke dalam tepung singkong tadi dalam perbandingan 100 g tepung dicampur dengan 100 ml air sehingga berbentuk pasta. Kemudian diinokulasi dengan suspensi spora dengan perbandingan 1 ml suspensi untuk 10 g substrat. Campuran kemudian dihomogenkan dan dituangkan secukupnya di dalam cawan petri. Cawan petri di inkubasi pada suhu 28° C hingga tumbuh miselium dari kapang ($\pm$ 30 jam).

Analisis kimia

Analisis kimia yang dilakukan adalah penetapan kadar air, sianida dan protein terhadap jenis-jenis singkong yang digunakan dalam penelitian, sebelum dan sesudah proses preparasi substrat dan produk singkong hasil fermentasi.

Kadar air ditentukan menurut AOAC (11), secara pengeringan di dalam oven pada suhu 105° C hingga diperoleh bobot tetap. Kadar sianida dengan cara destilasi uap dengan penampungan dalam larutan AgNO₃, berlebih, sisa AgNO₃, kemudian dititar dengan larutan KCNS. Prinsip analisa sianida adalah prinsip argentometri menurut metoda Volhard (12), atas dasar pengikatan ion sianida (CN⁻) oleh ion peral (Ag⁺) menjadi senyawa AgCN. Ion Ag⁺ ditambahkan berlebih dalam bentuk AgNO₃, Kelebihan ion Ag⁺ dititar dengan larutan kaliumthiosianat (KCNS) membentuk senyawa AgCNS yang berwarna merah bata.

Penetapan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metoda Biuret (13), karena metoda ini didasarkan pada ikatan peptida, bukan nitrogen total. Karena apabila menggunakan nitrogen total (metoda Kjeldahl), maka nitrogen yang ditetapkan tidak hanya 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. Kemudian ditambah 1 ml larutan CuSO₄.5H₂O 5% dan dikocok. Warna biru yang terbentuk dibaca absorbansinya pada spektrofotometer panjang gelombang 555 nm.

Hasil dan Bahasan

Tabel 1 menyajikan hasil analisis kandungan air, sianida dan protein dari jenis singkong pahit yang diperoleh dari kebun percobaan Balitbio Departemen Pertanian, Muara, Bogor, untuk digunakan dalam penelitian.

Tabel 1. Kadar air, sianida dan protein dalam 4 jenis singkong pahit segar

NO	Jenis singkong pahit	Air (%)	Sianida (mg/100 g)	Protein (g/100 g)
1.	Jenis Adira II	52.58	15.57	0.99
2.	Jenis Adira IV	56.55	5.61	0.91
3.	Jenis 39.1.1	59.14	10.02	0.72
4.	Jenis 46.8	58.60	24.67	0.85

Terlihat pada Tabel 1, bahwa kandungan sianida dari ke-4 jenis singkong pahit yang akan digunakan dalam penelitian ini diatas 5 mg per 100 g, yaitu batas minimal kadar yang dapat menimbulkan gangguan kesehatan (2).

Preparasi substrat singkong

Ke-4 jenis singkong yang akan didetoksifikasi dan ditingkatkan kadar proteinnya, terlebih dahulu dikeringkan hingga tercapai kadar air sekitar 10%. Setelah kering kemudian dianalisis kembali kandungan air, sianida dan proteinnya. Hasil analisis disajikan pada Tabel 2.

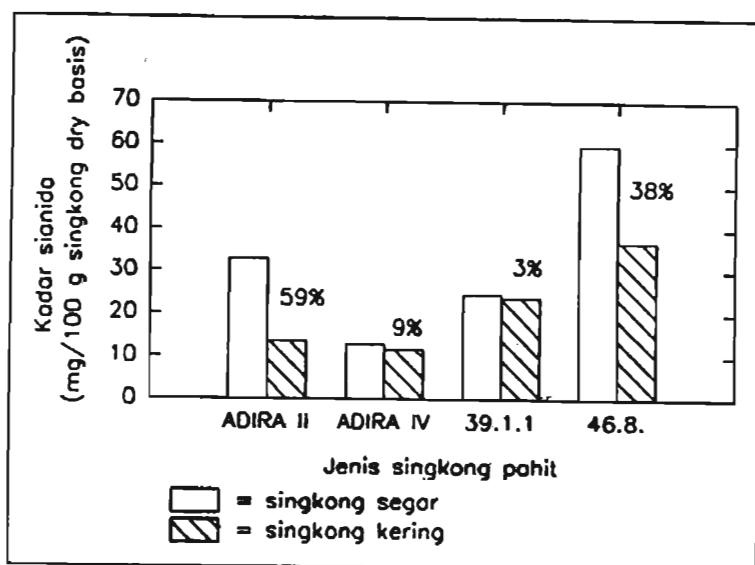
Preparasi substrat dengan cara pengeringan sinar matahari ternyata dapat menurunkan kadar sianida dan protein singkong. Tampaknya, proses pemanasan dengan sinar matahari dapat merusak struktur kimia protein dan sianida, sehingga kadar sianida dan protein singkong yang dikeringkan mengalami penurunan.

Tabel 2. Kadar air, sianida dan protein dalam 4 jenis singkong pahit yang telah dikeringkan

NO	Jenis singkong pahit	Air (%)	Sianida (mg/100 g)	Protein (g/100 g)
1.	Jenis Adira II	9.67	12.24	0.69
2.	Jenis Adira IV	8.84	10.70	0.72
3.	Jenis 39.1.1	6.01	22.28	0.62
4.	Jenis 46.8	10.28	33,05	0,72

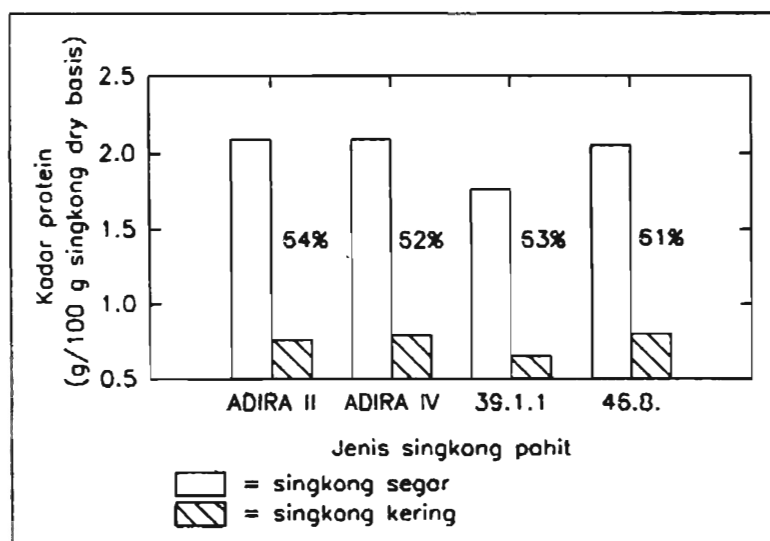
Besarnya penurunan kandungan sianida dan protein yang terjadi pada singkong yang telah dikeringkan disajikan dengan membandingkan kadar yang dihitung tanpa air (dry basis), seperti yang terlihat pada gambar 1 dan 2.

Penurunan sianida (gambar 1), antara 3-59%. Penurunan terbanyak terjadi pada jenis singkong Adira II (59%), kemudian jenis singkong 46.8% (38%), jenis singkong Adira IV (9%) dan yang paling sedikit adalah penurunan sianida pada jenis singkong 39.1.1 (3%). Sedangkan penurunan protein untuk setiap jenis singkong tidak banyak berbeda yaitu 6-64%.



Gambar 1. Penurunan kadar sianida singkong pahit segar setelah dikeringkan.

Gambar 1. Penurunan kadar sianida singkong pahit segar setelah dikeringkan



Gambar 2. Penurunan kadar protein singkong pahit segar setelah dikeringkan.

Gambar 2. Penurunan kadar protein singkong pahit segar setelah dikeringkan

Fermentasi

Tabel 3 menyajikan hasil analisis kadar air, sianida dan protein dari 4 jenis tepung hasil fermentasi singkong pahit

Tabel 3. Kadar air, sianida dan protein dalam 4 jenis tepung singkong pahit hasil fermentasi

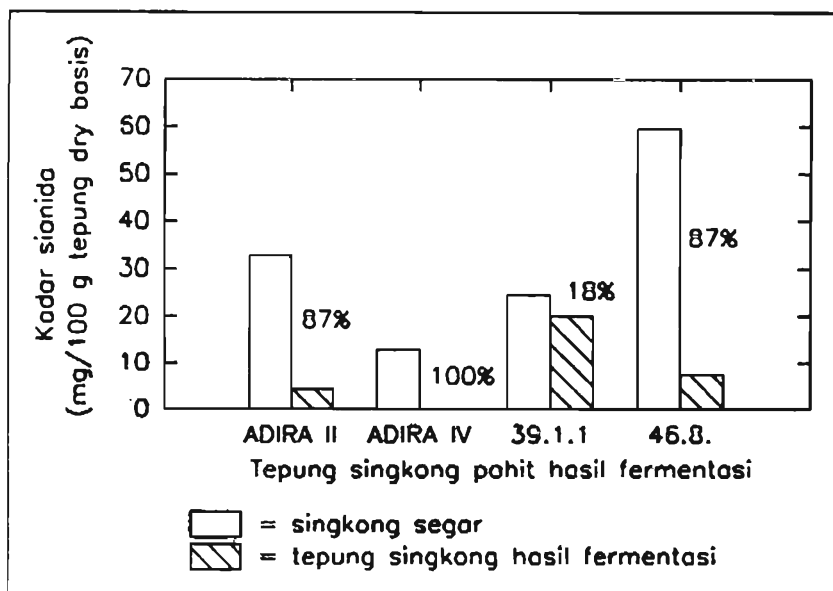
NO	Jenis singkong pahit	Air (%)	Sianida (mg/100 g)	Protein (g/100 g)
1.	Jenis Adira II	9.67	3.93	3.55
2.	Jenis Adira IV	8.84	-	2.96
3.	Jenis 39.1.1	6.01	19.04	5.01
4.	Jenis 46.8	10.28	6.73	2.72

Terlihat pada Tabel 3, bahwa jenis singkong pahit 39.1.1 setelah fermentasi mengandung sianida yang masih tinggi, yaitu 19.04 mg per 100 g. Demikian juga dengan singkong pahit 46.8, walaupun jauh lebih rendah yaitu 6.73 mg per 100 g, tetapi termasuk kadar yang dapat membahayakan kesehatan (2). Sedangkan untuk jenis singkong lainnya kadar sianida lebih rendah, bahkan pada jenis singkong Adira IV setelah fermentasi tidak terdeteksi adanya senyawa sianida.

Dibandingkan dengan hasil penelitian Padmaja, dkk (1985) dan Legras, dkk.(1990), degradasi kadar sianida berkisar antara 70-80%. Pada penelitian ini (gambar 3), penurunan sianida setelah fermentasi untuk jenis singkong Adira IV adalah 100%, 87% untuk Adira II dan untuk jenis singkong 46.8 dan yang paling rendah adalah pada jenis singkong 39.1.1 yaitu hanya 18%.

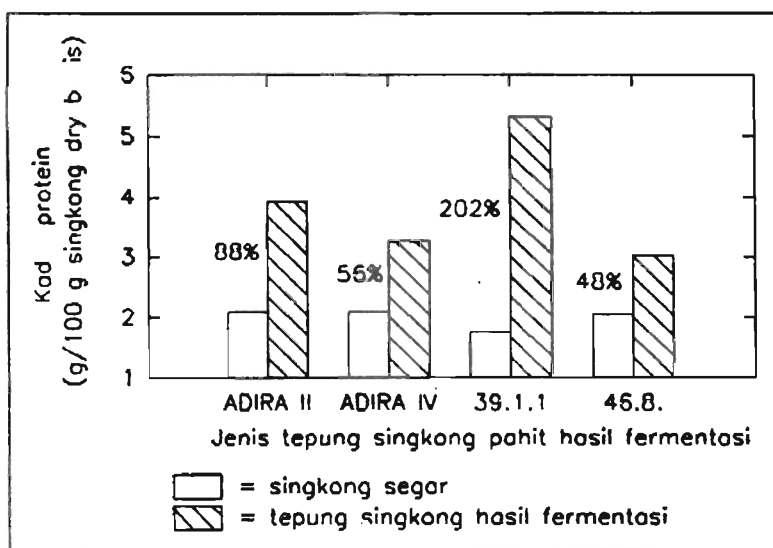
Besarnya penurunan sianida dalam penelitian ini tampaknya tidak dipengaruhi kadar sianida awal yang terkandung dalam singkong pahit segar. Kadar sianida tertinggi (24.67 mg per 100 g) pada singkong segera adalah dikandung dalam jenis singkong 46.8 dan penurunannya mencapai 87%. Kemudian jenis singkong Adira II (15.57 mg per 100 g), penurunannya 87%. Jenis singkong Adira IV mengandung sianida terendah (5.61 mg per 100 g), dan penurunannya setelah fermentasi 100%. Akan tetapi jenis singkong 39.1.1 yang hanya mengandung sianida sebesar 10.02 mg per 100 g, penurunan sianida yang tercapai 18%.

Sedangkan kenaikan protein yang tertinggi setelah fermentasi terjadi pada hasil fermentasi jenis singkong 39.1.1 yang dapat mencapai 202% (gambar 4). Kemudian hasil fermentasi jenis singkong Adira II (88%), Adira IV (56%) dan 48% untuk jenis singkong 46.8.



Gambar 3. Penurunan kadar sianida singkong pahit setelah fermentasi.

Gambar 3. Penurunan kadar sianida singkong pahit setelah fermentasi



Gambar 4. Pengaruh fermentasi terhadap kenaikan kadar protein singkong pahit.

Gambar 4. Pengaruh fermentasi terhadap kenaikan kadar protein singkong pahit

Simpulan

1. Detoksifikasi sianida dalam singkong pahit melalui fermentasi menggunakan kapang *rhizopus oligosporus* EN dapat mencapai 100% pada jenis singkong pahit Adira IV dengan kandungan sianida awal 5.61 mg per 100 g.
2. Tingginya kadar sianida awal yang terkandung dalam singkong pahit segar, tampaknya tidak menentukan persentase detoksifikasi yang dicapai dalam penelitian ini. Sebagai contoh, kadar sianida awal jenis singkong pahit 46.8 adalah 24.67 mg per 100 g dan persentase detoksifikasi yang tercapai sebesar 87%. Akan tetapi jenis singkong 39.1.1 yang mengandung sianida awal lebih rendah (10.02 mg per 100 g), persentase detoksifikasi yang tercapai lebih sedikit, yaitu 18%.
3. Proses detoksifikasi dalam penelitian ini, juga dapat meningkatkan protein.
4. Peningkatan yang tertinggi adalah pada jenis singkong yang penurunan kadar sianidanya rendah yaitu jenis singkong pahit 39.1.1 sebesar 202%.
5. Kenaikan protein tampaknya juga tidak dipengaruhi oleh besarnya persentase sianida yang terurai, karena kenaikan protein adalah bervariasi bagi jenis singkong pahit lainnya yang memiliki persentase penurunan sianida cukup banyak yaitu 88% untuk Adira II, 56% untuk Adira IV dan 48% untuk jenis singkong 46.8

Rujukan

1. Montgomery D.R. Cyanogen. Dalam: *Toxic constituents of plant foodstuffs*. New York: Academic Press 1980 : 143-157.
2. Conn E.E. Cyanogenic glucosides. Dalam: *Toxicants occurring naturally in foods*. New York: Academic Press 1972,80:299-306.
3. Legras J.L.; et al. *Detoxification of cassava pulp using Brevibacterium sp R312*. Applied microbiology and biotechnology 1990,33:529-533.
4. Padmaja G.B; Balagopal C. Cyanide degradation by *rhizopus oryzae*. Canadian Journal Microbiology 1985,31:663-669.
5. Socool C.R; Marin B and Raimbault M. *Breeding and growth of rhizopus in raw cassava by solid-state fermentation*. Applied microbiology and biotechnology 1994,41:330-336.
6. Darjanto. *Chasiat, ratjun dan masakan ketela pohon*. Djakarta : Pusat Djawatan Pertanian Rakjat, 1959.
7. Lingga P. *Bertanam umbi-umbian*. Jakarta : Penerbit Swadaya, 1993.
8. Suharno P. *Tepung singkong bahan pangan masa depan*. Pangan 1990,(1):63-67.
9. Bradbury J.H. and Holloway W.D. *Chemistry of tropical root crops: significance to nutrition and agricultural in the Pacific*. Australian Centre for International Agricultural Research Canberra 1988:101-104.
10. Biro Pusat Statistik. *Statistik Indonesia*. Jakarta: BPS, 1994.
11. Horwitz E.; et al. *Official method of analysis of the association of official analytical chemist*, 12 nd ed. Washington D.C. AOAC, 1975:13.
12. Busser H. *Penuntun analisa jumlah*. Bogor: Balai Penelitian Kimia 1960:18.
13. Mitchell D.A; et al. *Protein measurement in solid-state fermentation*. Biotechnology Techniques 1991,5(6):437-441.