

**Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Tepung Singkong  
Menggunakan *Bacillus firmus***

**SKRIPSI**

**Oleh :  
Apri Christianto  
0710923014-92**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2012**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Tepung Singkong  
Menggunakan *Bacillus firmus***

**SKRIPSI**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
dalam bidang kimia**

oleh :  
**Apri Christianto**  
**0710923014-92**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2012**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Tepung Singkong  
Menggunakan *Bacillus firmus***

oleh :  
**Apri Christianto**  
**0710923014-92**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal .....  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

**Pembimbing I**

**Prof.Dr.Ir.Chanif Mahdi.MS**  
**NIP. 19520412 198002 1 001**

**Pembimbing II**

**Dr. Sasangka Prasetyawan, MS**  
**NIP. 19630404 198701 1 001**

**Mengetahui,**  
**Ketua Jurusan Kimia**  
**Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Dr. Sasangka Prasetyawan, MS**  
**NIP. 19630404 198701 1 001**

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Apri Christianto

NIM : 0710923014-92

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

**Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Tepung Singkong  
Menggunakan *Bacillus firmus***

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari tugas akhir yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam tugas akhir ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 20 Januari 2012

Yang menyatakan,

(Apri Christianto)

NIM. 0710923014-92

# Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Tepung Singkong Menggunakan *Bacillus firmus*

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kondisi optimum fermentasi singkong dan karakterisasi tepung singkong menggunakan *Bacillus firmus*. Kondisi optimum ditentukan berdasarkan kadar asam laktat maksimum yang dihasilkan pada fermentasi. Kondisi fermentasi dipelajari pada variasi pH (3,4,5,6,7), suhu (40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C) dan (3,6,9,12,15) jam waktu inkubasi. Karakteristik tepung singkong fermentasi dan non fermentasi tersebut meliputi kandungan pati, amilosa, amilopektin dan daya pengembang tepung. Kondisi optimum fermentasi dicapai pada pH 6, suhu 70°C dan 9 jam waktu inkubasi. Dan dari setiap perlakuan pada pH, suhu dan waktu didapat hasil yang berbeda nyata ( $p>0,05$ ). Hasil karakterisasi tepung singkong fermentasi pada kondisi optimum menunjukkan kandungan pati, amilosa dan amilopektin yang lebih tinggi dan daya pengembang yang lebih baik daripada yang tidak terfermentasi. Kandungan pati, amilosa dan amilopektin pada singkong yang tidak terfermentasi adalah 83,08%, 6,40%, 76,68%. Sementara itu kandungan pati, amilosa dan amilopektin pada singkong yang terfermentasi adalah 87,69%, 7,42% dan 80,27%. Daya pengembang tepung pada singkong tidak terfermentasi 40% dan terjadi peningkatan pada singkong yang terfermentasi yaitu 50%.

Kata kunci: tepung singkong, fermentasi, kondisi optimum, pati

## Optimum Condition Determination of Cassava Flour Fermentation Using *Bacillus firmus*

### ABSTRACT

This research aimed to study the optimum condition of cassava fermentation and cassava flour characteristic by using *Bacillus firmus*. The optimum condition is determined based on the maximum amount of lactate acid produced by fermentation. The fermentation condition is studied at certain variations of pH (3,4,5,6,7), temperature (40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C) and incubation period (3,6,9,12,15 hours). The characteristic of fermented and non-fermented cassava consisted of starch, amylase, amylopectin contents and swelling power of the flour. The optimum condition for fermentation is reached at the temperature of 70 °C, pH 6, and 9 hours of incubation period. Within each treatment of pH, temperature, and incubation period, significant different results are obtained ( $p > 0,05$ ). The contents of starch, amylase, and amylopectin from non-fermented cassava were 83,08%, 6,40%, 76,68%, meanwhile from fermented cassava were 69%, 7,42% dan 80,27% respectively. The swelling power of flour for non-fermented cassava was 40% with an increasing level for fermented cassava at 50%.

Keywords: cassava flour, fermentation, optimum condition, starch

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan karunia-Nya yang telah diberikan sehingga dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir dengan judul **“Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi Tepung Singkong Menggunakan *Bacillus firmus*”**.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung selama pelaksanaan penelitian. Ungkapan terima kasih tersebut penulis sampaikan kepada:

1. Prof.Dr.Ir.Chanif Mahdi.MS , selaku dosen pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, serta dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, selaku dosen pembimbing II dan Ketua Jurusan Kimia.
3. Darjito, S.Si.M.Si, selaku Dosen Penasehat Akademik, atas segala bimbingan, perhatian, dan arahan selama penulis menyelesaikan studi di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
4. Dosen penguji atas segala saran dan masukan terhadap tugas akhir ini.
5. Kedua orang tua yang selalu mengiringi penulis dengan doa, perhatian dan kasih sayang serta dukungan hingga terselesainya tugas akhir ini.
6. Semua teman-teman mahasiswa dan staf pengajaran di Jurusan Kimia atas doa dan dukungannya.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharap kritik dan saran guna perbaikan dan penyempurnaannya sehingga dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 20 Januari 2012

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	3
1.3. Batasan Masalah.....	3
1.4. Tujuan Penelitian .....	3
1.5. Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1. Tepung Mocaf.....	5
2.2. Fermentasi Asam Laktat .....	6
2.3. Bakteri Asam Laktat .....	8
2.4. Karbohidrat Pada Singkong .....	9
2.5. Hipotesis .....	12
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>13</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	13
3.2. Bahan dan Alat Penelitian .....	13
3.2.1 Bahan Penelitian.....	13
3.2.2 Bahan Kimia.....	13
3.2.3 Alat Penelitian.....	13
3.3. Metode Penelitian .....	14
3.4. Prosedur Penelitian .....	14
3.4.1. Pembuatan Media .....	14
3.4.2. Pembuatan Media Padat .....	14

3.4.3. Peremajaan Biakan .....	15
3.4.4. Pembuatan Media Cair.....	15
3.4.5. Pembuatan Kurva Pertumbuhan .....	15
3.4.6. Pembuatan Inokulum .....	15
3.4.7. Penentuan Kondisi Optimum.....	16
3.4.7.1.Penentuan pH Optimum .....	16
3.4.7.2.Penentuan Suhu Optimum.....	16
3.4.7.3.Penentuan Waktu Optimum .....	16
3.4.8. Penentuan Uji Kualitas Tepung Singkong... 16	
3.4.8.1.Penentuan Kadar Asam Laktat .....	16
3.4.8.2.Penentuan Kadar Pati .....	17
3.4.8.2.1 Pembuatan Kurva Standar .....	17
3.4.8.2.2 Penentuan Kadar Pati.....	18
3.4.8.3.Penentuan Kadar Amilosa.....	19
3.4.8.3.1 Pembuatan Kurva Standar .....	19
3.4.8.3.2 Penentuan Kadar Amilosa .....	19
3.4.8.4.Penentuan Kadar Amilopektin .....	20
3.4.8.5.Penentuan Daya Pengembang .....	20
3.5. Analisa Data .....	20
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>21</b>
4.1. Penentuan Kondisi Optimum Bacillus firmus Pada Fermentasi Singkong . .....	22
4.1.1. Penentuan pH Optimum .....	22
4.1.2. Penentuan Suhu Optimum .....	24
4.1.3. Penentuan Waktu Optimum.....	25
4.2. Uji Kualitas Tepung Singkong.....	27
<b>BAB V. PENUTUP .....</b>	<b>29</b>
5.1. Kesimpulan .....	29
5.2. Saran.....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>33</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Amilum.....	10
Gambar 2.2	Struktur Amilosa.....	10
Gambar 2.3	Struktur Amilopektin.....	11
Gambar 4.1	Alur Glukosa Menjadi Asam Laktat.....	21
Gambar 4.2	Grafik Pengaruh pH Terhadap Asam Laktat .....	23
Gambar 4.3	Grafik Pengaruh Suhu Terhadap Asam Laktat ...	24
Gambar 4.4	Grafik Pengaruh Waktu Terhadap Asam Laktat.	26
Gambar E.5.1	Kurva Pertumbuhan <i>Bacillus firmus</i> .....	47
Gambar F.6.2.1	Grafik Kurva Standar Glukosa .....	52
Gambar F.6.3.1	Grafik Kurva Standar Amilosa.....	55



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Gizi singkong dalam 100 gram .....	5
Tabel 2.2	Perbedaan Komposisi Kimia Tepung Mocaf dan Tepung Terigu .....	6
Tabel 2.3	Perbedaan Komposisi Kimia Tepung Singkong Fermentasi dan Non-Fermentasi .....	7
Tabel 4.1	Perbandingan Kadar Pati, Amilosa, Amilopektin dan Daya Pengembang Tepung .....	27
Tabel E.5.1	Densitas Optik Sel <i>Bacillus firmus</i> Pada Interval 0 – 30 jam .....	47
Tabel F.6.1.1	Data Kadar Asam Laktat non Fermentasi .....	48
Tabel F.6.1.2.1	Data Kadar Asam Laktat Fermentasi Dengan Pengaruh pH .....	49
Tabel F.6.1.2.2	Data Kadar Asam Laktat Fermentasi Dengan Pengaruh Suhu .....	50
Tabel F.6.1.2.3	Data Kadar Asam Laktat Fermentasi Dengan Pengaruh Waktu Inkubasi .....	51
Tabel F.6.2.1	Data Kurva Standar Glukosa .....	52
Tabel F.6.2.2.1	Data Kadar Pati Dengan Fermentasi .....	53
Tabel F.6.2.2.2	Data Kadar Pati non Fermentasi .....	54
Tabel F.6.3.1	Data Kurva Standar Amilosa .....	55
Tabel F.6.3.2.1	Data Kadar Amilosa Dengan Fermentasi .....	56
Tabel F.6.3.2.2	Data Kadar Amilosa non Fermentasi .....	57
Tabel F.6.4.1	Data Daya Pengembang Serbuk Fermentasi .....	58
Tabel F.6.4.2	Data Daya Pengembang Serbuk non Fermentasi .....	59
Tabel G.7.1.1	Penentuan pH Optimum .....	60
Tabel G.7.1.1.1	Analisis Ragam Penentuan Kondisi pH Optimum .....	62
Tabel G.7.1.1.2	Hasil Uji BNT 5 % Penentuan Kondisi pH Optimum .....	62
Tabel G.7.1.2	Penentuan Suhu Optimum .....	63
Tabel G.7.1.2.1	Analisis Ragam Penentuan Kondisi Suhu Optimum .....	63
Tabel G.7.1.1.2	Hasil Uji BNT 5 % Penentuan Kondisi Suhu Optimum .....	64
Tabel G.7.1.3	Penentuan Waktu Inkubasi Optimum .....	64
Tabel G.7.1.3.1	Analisis Ragam Penentuan Kondisi Waktu	

Inkubasi Optimum.....	65
Tabel G.7.1.3.2 Hasil Uji BNT 5 % Penentuan Kondisi Waktu	
Inkubasi Optimum.....	65

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Skema Kerja Penelitian .....	33
Lampiran B	Diagram Kerja Penelitian .....	34
	B.2.1. Pembuatan Media Padat.....	34
	B.2.2. Peremajaan Biakan.....	34
	B.2.3. Pembuatan Media Cair.....	35
	B.2.4. Pembuatan Kurva Pertumbuhan.....	35
	B.2.5. Pembuatan Inokulum .....	36
	B.2.6. Penentuan Kondisi Optimum .....	36
	B.2.6.1. Penentuan pH Optimum .....	36
	B.2.6.2. Penentuan Suhu Optimum .....	37
	B.2.6.3. Penentuan Waktu Optimum.....	37
	B.2.7. Penentuan Uji Kualitas Tepung Singkong..	38
	B.2.7.1. Penentuan Kadar Asam Laktat .....	38
	B.2.7.2. Penentuan Kadar Pati.....	39
	B.2.7.2.1 Pembuatan Kurva Standar.....	39
	B.2.7.2.2 Penentuan Kadar Pati .....	40
	B.2.7.3. Penentuan Kadar Amilosa .....	41
	B.2.7.3.1 Pembuatan Kurva Standar.....	41
	B.2.7.3.2 Penentuan Kadar Amilosa.....	42
	B.2.7.4. Penentuan Daya Pengembang .....	43
Lampiran C	Preparasi Larutan.....	44
	C.3.1. Larutan NaOH 0,01M .....	44
	C.3.2. Larutan NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,2 M.....	44
	C.3.3. Larutan NaHPO <sub>4</sub> 0,2 M.....	44
	C.3.4. Larutan Buffer Fosfat pH 7 .....	44
	C.3.5. Larutan Indikator Fenolftalein 1 % .....	44
Lampiran D	Perhitungan Pembuatan Larutan .....	45
	D.4.1. Pembuatan Larutan NaOH 0,01M .....	45
	D.4.2. Pembuatan Larutan NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,2 M.....	45
	D.4.3. Pembuatan Larutan NaHPO <sub>4</sub> 0,2 M.....	45
	D.4.4. Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 7 .....	46
Lampiran E	Kurva Pertumbuhan.....	47
	E.5.1. Kurva Pertumbuhan <i>Bacillus firmus</i> .....	47
Lampiran F	Perhitungan Data Hasil.....	48

F.6.1. Penentuan Kadar Asam Laktat .....	48
F.6.1.1. Non Fermentasi .....	48
F.6.1.2. Fermentasi .....	49
F.6.1.2.1 Pengaruh pH .....	49
F.6.1.2.2 Pengaruh Suhu .....	50
F.6.1.2.3 Pengaruh Waktu Inkubasi .....	51
F.6.2. Penentuan Kadar Pati .....	52
F.6.2.1. Kurva Standar Glukosa .....	52
F.6.2.2. Kadar Pati .....	53
F.6.2.2.1 Fermentasi .....	53
F.6.2.2.2 Non Fermentasi .....	54
F.6.3. Penentuan Kadar Amilosa .....	55
F.6.3.1. Kurva Standar Amilosa .....	55
F.6.3.2. Kadar Amilosa .....	56
F.6.3.2.1 Fermentasi .....	56
F.6.3.2.2 Non Fermentasi .....	57
F.6.4. Daya Pengembang Serbuk .....	58
F.6.4.1. Fermentasi .....	58
F.6.4.2. Non Fermentasi .....	59
Lampiran G      Analisis Data .....	60
G.7.1. Penentuan Kondisi Optimum <i>Bacillus</i> <i>firmus</i> pada Fermentasi Singkong .....	60

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Perkembangan teknologi menyebabkan perubahan terhadap pola konsumsi masyarakat. Masyarakat cenderung tertarik pada produk pangan yang praktis dalam penyajiannya dan terkesan lebih modern, seperti produk mie, roti, makanan ringan dan sebagainya. Perubahan pola konsumsi ini menyebabkan kebutuhan akan bahan pangan berbasis tepung-tepungan meningkat pesat, salah satunya yang paling besar adalah kebutuhan akan tepung terigu. Menurut data oleh Media Data riset tahun 2010 [1] kebutuhan tepung secara nasional terus mengalami peningkatan yang cukup signifikan. Pada tahun 1995 sampai dengan 2004, konsumsi tepung terigu nasional untuk berbagai industri terus mengalami peningkatan. Pada tahun 2005 sampai 2009, konsumsi tepung terigu nasional sebesar 4,6 juta ton dan diperkirakan permintaan tepung terigu pada 2014 akan mencapai 5,7 juta ton per tahun.

Salah satu cara untuk menanggulangi masalah tersebut adalah dengan meningkatkan pemanfaatan sumber daya alam dan hasil-hasil pertanian dalam hal penggunaan sumber pangan baru. Salah satunya adalah tepung yang terbuat dari singkong.

Singkong merupakan sumber daya alam yang kurang mendapatkan perhatian dan dapat dijadikan sebagai upaya substitusi tepung terigu. Prospek singkong sangat besar dalam pengembangan industri pangan olahan berbasis sumber pangan lokal. Namun kondisi dari tepung yang terbuat dari singkong sendiri memiliki aroma dan cita rasa tepung singkong yang cenderung tidak disukai konsumen [2].

Di Afrika telah dilakukan penelitian tentang fermentasi tepung singkong dengan memanfaatkan berbagai macam Bakteri Asam Laktat (BAL) antara lain seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*

*Streptococcus*, dan *Leuconostoc*. Hasil yang didapatkan adalah tepung singkong yang memiliki aroma dan rasa yang lebih enak. Hal ini dikarenakan pada bakteri asam laktat tersebut memiliki enzim proteases, amilase, lipase yang membuat tepung singkong terfermentasi enak untuk dikonsumsi sebagaimana dilaporkan oleh Chelule [3]. Selain itu Chelule juga menjelaskan bahwa tepung singkong yang terfermentasi memiliki nutrisi dan gizi yang lebih baik.

Tujuan utama dari fermentasi adalah agar komposisi tepung singkong terfermentasi akan berbeda pada komposisi kimia bila dibandingkan dengan tepung singkong non-fermentasi. Hal ini disebabkan oleh mikroba yang tumbuh menghasilkan enzim yang dapat menghancurkan dinding sel singkong, sedemikian rupa sehingga terjadi liberasi granula pati. Mikroba tersebut juga menghasilkan enzim-enzim yang menghidrolisis pati menjadi gula dan selanjutnya mengubahnya menjadi asam-asam organik, terutama asam laktat. Hal ini akan menyebabkan perubahan karakteristik dari tepung yang dihasilkan.

Fermentasi asam laktat sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, suhu, waktu fermentasi, substrat dan juga mikroba yang digunakan untuk fermentasi. Hanya pada keadaan optimum, *Bacillus firmus* dapat melakukan aktivitasnya dengan sangat baik. Keadaan yang mempengaruhi kinerja agen biologis ini terutama adalah pH, suhu serta waktu fermentasi optimum lingkungan, dimana perkembangbiakan *Bacillus firmus* maksimal sehingga aktivitas fermentasi oleh bakteri ini dapat menghasilkan produk yang sempurna. Oleh sebab itu perlu dilakukan analisis pH, suhu dan waktu inkubasi fermentasi optimum untuk pertumbuhan *Bacillus firmus* [4].

*Bacillus firmus* merupakan bakteri yang bersifat homofermentatif, bakteri ini dapat mengubah hampir 98% glukosa yang ada pada substrat menjadi asam laktat. *Bacillus firmus* merupakan spesies bakteri yang menghasilkan amilase dimana jenis

amilase yang dihasilkan oleh bakteri ini adalah enzim ekstraselular [5].

Hal diatas yang melatarbelakangi dilakukan penelitian mengenai penentuan kondisi optimum (pH, suhu, dan waktu) pada *Bacillus firmus* dalam proses fermentasi substrat pada tepung singkong menjadi asam laktat, yang mana nantinya akan dikaji karakteristik tepung singkong yang terfermentasi maupun yang tidak terfermentasi.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimanakah kondisi optimum fermentasi singkong menggunakan *Bacillus firmus* meliputi pH, suhu dan waktu inkubasi ?
2. Berapakah kadar pati, amilosa, amilopektin dan daya pengembang tepung singkong terfermentasi dan non-terfermentasi ?

## **1.3 Batasan Masalah**

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan di atas, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Kondisi optimum fermentasi singkong menggunakan *Bacillus firmus* yang ditentukan meliputi pH, suhu dan waktu inkubasi.
2. Kadar pati, amilosa, amilopektin dan daya pengembang tepung singkong terfermentasi dan non-terfermentasi.

## **1.4 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mempelajari kondisi optimum dari fermentasi singkong menggunakan *Bacillus firmus* meliputi pH, suhu dan waktu inkubasi.

2. Menentukan kadar pati, amilosa, amilopektin dan daya pengembang tepung singkong terfermentasi dan non-terfermentasi.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah dengan adanya tepung singkong terfermentasi ini diharapkan nantinya dapat menggantikan kebutuhan tepung terigu khususnya di Indonesia dengan kualitas tepung singkong yang hampir sama dengan tepung terigu.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tepung Mocaf

Singkong (*Manihot esculenta*) yang dikenal sebagai ketela pohon atau umbi kayu adalah pohon tahunan tropika dan subtropika dari keluarga *Euphorbiaceae*. Umbinya dimanfaatkan secara luas sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran.

Menurut rukmana [6] tanaman singkong diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae* (tumbuh-tumbuhan)

Divisi : *Spermatophyta* (tumbuhan berbiji)

Subdivisi : *Angiospermae* (berbiji tertutup)

Kelas : *Dicotyledonae* (biji berkeping dua)

Ordo : *Euphorbiales*

Famili : *Euphorbiaceae*

Genus : *Manihot*

Spesies : *Manihot esculenta* Crantz sin. *M. utilisissima* Pohl.

Sejalan dengan permintaan pasar yang terus meningkat, maka beberapa singkong dibudidayakan di Indonesia. Menurut Chan [7] kandungan gizi singkong dalam 100 gram ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Gizi Singkong dalam 100 gram

Komponen	Jumlah
Kalori ( kal)	146
Protein ( g)	Maks 1,2
Lemak ( g)	Maks 0,3
Karbohidrat ( g)	34,7
Energi (kal)	146,0
Air ( g)	62,5

Salim [8] menyatakan tepung mocaf merupakan tepung yang terbuat dengan cara singkong dipotong-potong, difermentasikan dahulu, dikeringkan kemudian dibuat tepung. Tepung mocaf memiliki kandungan nutrisi yang berbeda bila dibandingkan dengan tepung terigu. Tepung mocaf yang berbahan baku singkong memiliki sedikit protein akan tetapi kaya akan kandungan karbohidrat sedangkan tepung terigu yang berbahan dasar gandum kaya akan protein akan tetapi memiliki kandungan karbohidrat yang sedikit .

Tabel 2.2.Perbedaan Komposisi Kimia Tepung Mocaf dan Tepung Terigu

Parameter	Mocaf	Terigu
Kadar Air (%)	6,9	12
Kadar protein (%)	1,2	8 – 13
Kadar abu (%)	0,4	1,3
Kadar pati (%)	87,3	60 – 68
Kadar serat (%)	3,4	2 – 2,5
Kadar lemak (%)	0,4	1,5 - 2

## 2.2 Fermentasi Asam Laktat

Menurut Tjokroadikoesoemo [9] fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia dari satu substrat organik yang dapat berlangsung karena aktifitas enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroba.

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain [10] :

### 1. Suhu

Selama melakukan aktivitas, mikroba membebaskan panas. Sehingga perlu dilakukan kontrol suhu karena setiap mikroba mempunyai toleransi suhu yang berbeda-beda dimana mikroba masih tetap hidup dan aktif.

### 2. pH

Dihasilkan enzim oleh aktivitas mikroba berarti mempercepat reaksi oksidasi-reduksi sehingga pH larutan akan

berubah selama proses fermentasi berlangsung. Jadi pH perlu dikontrol baik awal maupun selama proses berlangsung sehingga didapat pH optimum untuk pertumbuhan mikroba dan diperoleh hasil yang maksimal.

### 3. Waktu

Dalam hidupnya, mikroba terbagi atas fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase pertumbuhan logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan tetap, fase menuju kematian, dan fase kematian. Pada fase logaritmik mikroba membelah cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik dimana kecepatan pertumbuhan dipengaruhi oleh medium tempat tumbuh.

Fermentasi asam laktat dapat diaplikasikan pada fermentasi singkong. Dengan adanya fermentasi pada tepung singkong, menyebabkan komposisi tepung singkong terfermentasi akan berbeda pada komposisi kimianya (Tabel 2.3) bila dibandingkan dengan tepung singkong non-fermentasi [11].

Tabel 2.3. Perbedaan Komposisi Kimia Tepung Singkong Fermentasi dan non Fermentasi

<b>Parameter</b>	<b>Fermentasi</b>	<b>Non Fermentasi</b>
Kadar Air (%)	Maks 13	Maks 13
Kadar protein (%)	Maks 1,0	Maks 1,2
Kadar abu (%)	Maks 0,2	Maks 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

Berdasarkan Tabel 2.3, walaupun dari komposisi kimianya tidak jauh berbeda, tepung singkong terfermentasi mempunyai karakteristik fisik dan organoleptik yang spesifik jika dibandingkan dengan tepung singkong pada umumnya. Kandungan protein tepung singkong fermentasi lebih rendah dibandingkan tepung singkong,

dimana senyawa ini dapat menyebabkan warna coklat ketika pengeringan atau pemanasan. Dampaknya adalah warna tepung singkong fermentasi yang dihasilkan lebih putih jika dibandingkan dengan warna tepung singkong non fermentasi.

Pada proses fermentasi tepung mocaf ini, mikroba yang tumbuh menghasilkan enzim pektinolitik dan selulolitik yang dapat menghancurkan dinding sel singkong sehingga terjadi leberasi granula pati. Selanjutnya, granula pati tersebut mengalami hidrolisis yang menghasilkan monosakarida sebagai bahan baku untuk menghasilkan asam-asam organik. Senyawa asam ini akan terimbibisi dalam bahan dan ketika bahan tersebut diolah dapat menghasilkan aroma dan cita rasa khas singkong yang dapat menutupi aroma dan cita rasa singkong yang cenderung tidak menyenangkan konsumen [8]

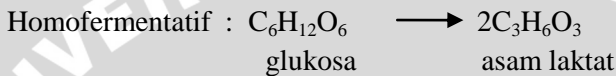
### **2.3 Bakteri Asam Laktat**

Menurut salim [8] teknik fermentasi mocaf pada umumnya menggunakan bakteri asam laktat atau enzimatis. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan mendegradasi gula yang terkandung dalam media pertumbuhan menjadi gula sederhana, mendegradasi protein dan peptida menjadi asam amino. Asam laktat yang dihasilkan akan memberikan aroma dan flavor. Selain itu bakteri asam laktat aman digunakan dalam pengolahan produk pangan karena tidak menghasilkan toksin.

Bakteri asam laktat sering ditemukan secara alamiah dalam bahan pangan. Bakteri ini umumnya hidup dalam lingkungan kaya nutrisi seperti beberapa jenis makanan (susu, daging, sayuran) tetapi ada juga yang hidup dalam mulut, lambung dan vagina mamalia [12]. Menurut Leroy [13], bakteri asam laktat dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan aroma serta tekstur berbagai produk bahan pangan. Sifat-sifat bakteri asam laktat adalah tumbuh pada pH 3,8–8 serta mampu menfermentasikan berbagai monosakarida dan disakarida [14].



Bakteri asam laktat pada umumnya dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Pada golongan homofermentatif hasil fermentasi terbesar merupakan asam laktat yaitu kira-kira 85%, sedangkan pada heterofermentatif jumlah asam laktat yang dihasilkan kurang dari 85% atau kira-kira seimbang dengan hasil-hasil lainnya, misalnya asam asetat, etanol, CO<sub>2</sub>, dan sebagainya [10]. Reaksi fermentasi homofermentatif yang terjadi menurut Salle [15] adalah sebagai berikut:



Salah satu bakteri asam laktat adalah bakteri *Bacillus firmus*. Adapun klasifikasi dari *Bacillus firmus* adalah sebagai berikut [5]:

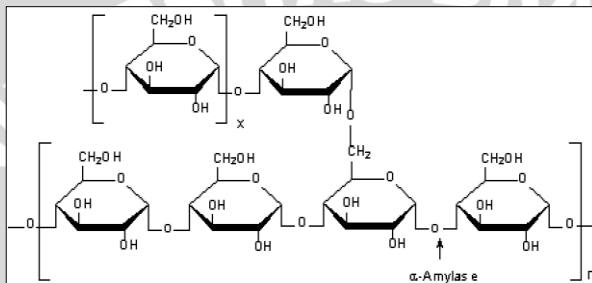
Kingdom : *Bacteria*  
Divisi : *Firmicutes*  
Klas : *Bacilli*  
Ordo : *Bacillales*  
Famili : *Bacillaceae*  
Genus : *Bacillus*  
Spesies : *Firmus*

*Bacillus firmus* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dengan panjang antara 1,5-3 µm dan lebar antara 0,6-0,8 µm. Spora dari bakteri ini berbentuk batang silindris atau elips dan terdapat pada sentral atau parasentral [16]. Bentuk koloninya bulat, berukuran kecil sampai sedang dengan warna koloni putih dan tidak tembus pandang. [5].

## 2.4 Karbohidrat pada singkong

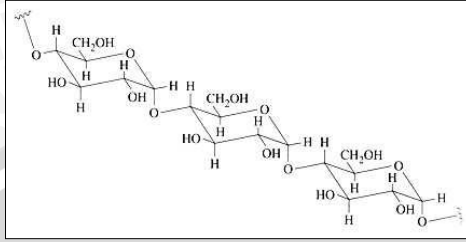
Amilum merupakan suatu senyawa organik yang tersebar luas pada kandungan tanaman. Amilum dihasilkan dari dalam daun-daun hijau sebagai wujud penyimpanan sementara dari produk fotosintesis. Amilum juga tersimpan dalam bahan makanan cadangan yang permanen untuk tanaman, dalam biji, jari-jari beras, kulit batang, akar tanaman menahun, dan umbi. Amilum adalah

karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air, berwujud bubuk putih, tawar dan tidak berbau. Amilum merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa (sebagai produk fotosintesis) dalam jangka panjang [17]. Amilum tersusun dari dua macam karbohidrat, amilosa dan amilopektin, dalam komposisi yang berbeda-beda. Struktur amilum ditunjukkan pada Gambar 2.1 [18].



Gambar 2.1. Struktur Amilum

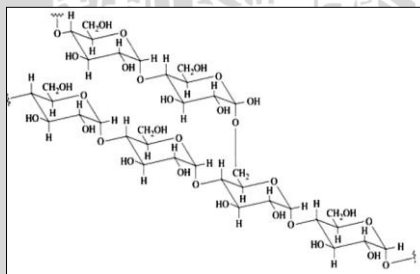
Amilosa merupakan polisakarida, yaitu polimer yang tersusun dari glukosa sebagai monomernya. Tiap-tiap monomer terhubung dengan ikatan 1,4-glikosidik. Amilosa merupakan polimer tidak bercabang dan apabila dalam masakan, amilosa memberi efek keras bagi pati atau tepung [18]. Ciri lain yang dimiliki amilosa adalah secara preparatif mempunyai berat molekul 10000 – 50000 g/mol, larut dalam air, dan jika bereaksi dengan iodium akan memberikan warna biru.



Gambar 2.2. Struktur Amilosa

Amilopektin merupakan rantai cabang yang tersusun atas unit glukosa dengan ikatan  $\alpha$  (1,4)-D dan  $\alpha$  (1,6)-D glukosa. Titik percabangan ini terdiri dari beratus-ratus cabang dan berat molekul diperkirakan sekitar satu juta. [19]

Dalam produk makanan, amilopektin bersifat menstimulasi terjadinya proses pengembangan (*puffing*) dimana produk makan yang berasal dari pati yang kandungan amilopektinnya tinggi akan bersifat ringan, kering dan renyah. Kebalikannya, pati dengan kandungan amilosa tinggi cenderung menghasilkan produk yang keras, pejal, karena proses mekarnya terjadi secara terbatas. Ciri lain dari amilopektin adalah secara preparatif mempunyai berat molekul di atas 50000 – jutaan g/mol, tidak larut dalam air, dan jika bereaksi dengan iodium akan memberikan warna violet seperti merah violet.



Gambar 2.3. Struktur Amilopektin

## 2.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Kondisi optimum fermentasi singkong dapat mempengaruhi kandungan gizi singkong.
2. Fermentasi asam laktat memiliki kondisi optimum meliputi waktu, suhu dan pH.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## **BAB III METODOLOGI**

### **3.1 Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2010.

### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

#### **3.2.1 Bahan penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni bakteri *Bacillus firmus* yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang.

#### **3.2.2 Bahan kimia**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Natrium Dihidrogen Fosfat (p.a), Dinatrium Hidrogen Fosfat (p.a), Natrium Hidroksida (p.a), Asam Asetat (p.a), Etanol (p.a), Alkohol (p.a), Indikator PP 1% (p.a), Amilosa p(p.a), reagen Arsenomolybdat (p.a), pepton (*for biochemistry*), agar bakteri, glukosa, *Lab lamco*, *Yeast extract*, dan akuades.

#### **3.2.3 Alat penelitian**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas, jarum ose, buret, bola hisap, pH meter, statif, kapas steril, *autoclave*, botol semprot, bunsen, inkubator, labu *kjeldahl*, oven (Memmert), cawan pengabuan, penangas air (Memmert NR 900660), lemari pendingin, tabung ekstraksi, sentrifuge, kertas saring, dan kain penyaring.

### **3.3 Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan adalah dengan metode percobaan di laboratorium yang berupa pembuatan singkong terfermentasi dengan inokulum bakteri asam laktat *Bacillus firmus*. Dari setiap perlakuan dilakukan 2 kali pengulangan, pola rancangan yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap). Adapun tahap-tahap penelitian adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Media Padat
2. Peremajaan Biakan
3. Pembuatan Media Cair
4. Pembuatan Kurva Pertumbuhan
5. Pembuatan Inokulum
6. Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi *Bacillus firmus*
7. Uji Kualitas tepung Singkong

### **3.4 Cara Kerja**

#### **3.4.1 Pembuatan media**

Media yang perlu disiapkan adalah media padat untuk peremajaan kultur murni bakteri dan media cair untuk pembuatan inokulum.

#### **3.4.2 Pembuatan media padat**

Media padat dibuat dengan mencampurkan 1 gram pepton, 1 gram laktosa, 0,6 gram Lab Lemco Powder, 2 gram *Yeast extract*, 4 gram glukosa, dan 2,8 gram agar bakteri kemudian diencerkan dengan akuades hingga volumenya 200 mL lalu dididihkan hingga seluruh agar larut. Lalu larutan dimasukkan ke dalam 30 buah tabung reaksi dan disterilkan dengan *autoclave*, dimiringkan dan dibiarkan memadat.

### **3.4.3 Peremajaan biakan**

Bakteri *Bacillus firmus* dari biakan murninya digoreskan pada media padat dengan ujung jarum ose secara aseptik yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggoreskan jarum ose dan dilakukan pada keadaan steril, ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam dalam inkubator.

### **3.4.4 Pembuatan media cair**

Media cair dibuat dengan mencampurkan 1,5 gram pepton, 0,9 gram Lab Lemco Powder, 3 gram *Yeast extract*, 6 gram glukosa, kemudian diencerkan dengan akuades hingga volumenya 300 mL.

### **3.4.5 Pembuatan kurva pertumbuhan**

Satu tabung sub kultur bakteri (tiga mata ose) hasil peremajaan dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi 100 mL media pertumbuhan, kemudian diinkubasi pada inkubator goyang dengan kecepatan 125 rpm pada suhu kamar selama 25 jam. Setiap selang waktu 1 jam diambil 1 mL dan diencerkan sampai volume 10 mL, kemudian dilakukan pengukuran densitas optik pertumbuhan sel pada panjang gelombang 620 nm menggunakan Spektrometri. Setelah itu dibuat grafik hubungan waktu inkubasi dengan densitas optik dan diperoleh kurva pertumbuhan *Bacillus firmus*.

### **3.4.6 Pembuatan inokulum**

Bakteri yang telah tumbuh dalam media padat miring yang berumur 1 hari diambil sebanyak satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 25 mL media cair setelah itu diinkubasi dalam inkubator suhu 37 °C hingga setengah fasa logaritmanya. Suspensi bakteri ini berfungsi sebagai inokulum.

### **3.4.7 Penentuan kondisi optimum**

#### **3.4.7.1 Penentuan pH optimum**

Sampel diiris kecil-kecil lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan inokulum sebanyak 8 mL. Kemudian larutan ditambahkan larutan pH dengan variasi 3,4,5,6,7,8 secara aseptis, diaduk sampai rata dan ditutup rapat. Lalu diinkubasi pada inkubator dengan suhu 60°C dan inkubasi selama 6 jam. pH optimum ditentukan dengan mengukur kadar asam laktat yang diketahui dengan menggambarkan grafik hubungan pH terhadap kadar asam laktat.

#### **3.4.7.2 Penentuan suhu optimum**

Sampel diiris kecil-kecil lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan inokulum sebanyak 8 mL. Larutan ditambahkan larutan pH optimum secara aseptis, diaduk sampai rata dan ditutup rapat. Kemudian diinkubasi pada inkubator dengan variasi suhu 40, 50, 60, 70, 80 °C dan diinkubasi selama 6 jam. Suhu optimum diketahui dengan menggambarkan grafik hubungan suhu terhadap kadar asam laktat.

#### **3.4.7.3 Penentuan waktu optimum**

Sampel diiris kecil-kecil lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan inokulum sebanyak 8 mL. Larutan ditambahkan larutan pH optimum secara aseptis, diaduk sampai rata dan ditutup rapat. Kemudian diinkubasi pada inkubator dengan suhu optimum dengan variasi waktu inkubasi 3, 6, 9, 12 dan 15 jam. waktu optimum diketahui dengan menggambarkan grafik hubungan waktu terhadap kadar asam laktat.

### **3.4.8 Penentuan uji kualitas tepung singkong**

#### **3.4.8.1 Penentuan kadar asam laktat**

Singkong yang belum difermentasi dan singkong yang telah terfermentasi (dengan pengaruh pH, suhu, waktu optimum) yang



telah berbentuk serbuk ditimbang sebanyak 0,3 gram. Lalu ditempatkan pada erlenmeyer 250 mL. Kemudian ditambahkan 9 mL akuades. Lalu ditetesi dengan pp 1 % sebanyak 3 tetes. Larutan tersebut dititrasi dengan NaOH 0,01 M sampai terjadi perubahan warna. Dan dicatat volume titrasi yang selanjutnya dapat ditentukan kadarnya dengan rumus:

$$\text{Kadar Asam Laktat} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times \text{BM}_{\text{as. laktat}} \times M_{\text{NaOH}} \times 100\%}{W_{\text{sampel}} \times 1000}$$

dimana,

$V_{\text{NaOH}}$  = Volume titrasi (mL)

$M_{\text{NaOH}}$  = Molaritas NaOH (mol/L)

$\text{BM}_{\text{asam laktat}}$  = Berat Molekul Asam Laktat (g/mol)

$W_{\text{sampel}}$  = Berat sampel (g)

### 3.4.8.2 Penentuan kadar pati [20].

#### 3.4.8.2.1 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Dibuat larutan glukosa standar (10 mg glukosa anhidrat/100 ml) dari larutan glukosa standar tersebut dilakukan 6 pengeceran sehinggadiperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi : 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/100 mL.

Disiapkan 7 tabung reaksi yang bersih, masing-masing diisi dengan 1 ml larutan glukosa standar tersebut di atas. Satu tabung diisi 1 ml air suling sebagai blangko.

Ditambahkan ke dalam masing-masing tabung di atas 1 ml reagensia Nelson dan panaskan semua tabung pada penangas air mendidih selama 20 menit. Diambil semua tabung dan segera didinginkan bersama-sama dalam gelas piala yang berisi air dingin sehingga suhu tabung mencapai 25°C.

Setelah dingin tambahkan 1 ml reagensia Arsenomolybdat gojog sampai semua endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  yang ada larut kembali. Setelah semua endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  larut sempurna, tambahkan 7 ml air suling, digojog sampai homogen. Kemudian diukur absorbansi pada panjang

gelombang 540 nm. Lalu dibuat kurva hubungan hubungan antara konsentrasi glukosa dan absorbansi.

#### **3.4.8.2.2 Penentuan kadar pati [20]**

Timbang 2 – 5 g contoh yang berupa bahan padat yang telah dihaluskan atau bahan cair dalam gelas piala 250 mL, tambahkan 50 mL akuades dan aduk selama 1 jam. Suspensi disaring dengan kertas saring dan dicucidengan akuades sampai volume filtrat 250 mL. Filter ini mengandung karbohidrat yang terlarut dan dibuang.

Untuk bahan yang mengandung lemak, maka pati yang terdapat sebagai residu pada kertas saring dicuci 5 kali dengan 10 mL eter, biarkan eter menguap dari residu, kemudian cuci lagi dengan 150 mL alkohol 10% untuk membebaskan lebih lanjut karbohidrat yang terlarut.

Residu dipindahkan secara kuantitatif dari kertas saring ke dalam Erlenmeyer serta dicuci dengan 200 mL akuades dan ditambahkan 20 mL HCl 25% , tutup dengan pendingin balik dan panaskan di atas penangas air mendidih selama 2,5 jam. Setelah dingin netralkan dengan larutan NaOH 45% dan encerkan sampai volume 500 mL, kemudian saring. Dan filtrat yang akan digunakan.

Filtrat yang ada dijernihkan terlebih dahulu dengan Pb-asetat kemudian dipipet 1 mL larutan yang jernih tersebut ke dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan 1 mL reagen Nelson. Selanjutnya larutan pada tabung reaksi dipanaskan pada penangas air yang mendidih selama 20 menit kemudian didinginkan samapi suhu tabung reaksi  $\pm 25$  °C. Setelah dingin, larutan ditambahkan 1 mL reagen Arsenomolibdat dan digojog. Kemudian ditambahkan 7 mL akuades dan digojog.

Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm, sehingga adapat ditentukan kadar pati dengan menghubungkan nilai absorbansi dengan kurva standar larutan glukosa dengan rumus:

$$\text{Pati (\%)} = \frac{A}{S} \times \frac{FP}{W} \times 100 \times 0,9$$

Keterangan:

A = absorbansi sampel

S = *slope* / kemiringan kurva

FP = faktor pengenceran

W = berat sampel (gram)

### 3.4.8.3 Penentuan kadar amilosa [21]

#### 3.4.8.3.1 Standarisasi amilosa

Amilosa murni sebanyak 40 mg dimasukkan dalam labu ukur 100 ml ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1N. Larutan dipanaskan dalam penangas air bersuhu 100 °C selama 10 menit. Setelah didinginkan, larutan gel pati dipindahkan secara kuantitatif kedalam labu ukur 100 ml dan ditanda bataskan dengan akuades menjadi larutan standar .

Selanjutnya larutan tersebut dipipet masing-masing sebanyak 1,2,3,4 dan 5 ml lalu dimasukkan dalam labu ukur 100 ml. Kedalam masing-masing labu ukur ditambahkan asam asetat 1 N sebanyak masing-masing 0,2, 0,4 ,0,6 , 0,8 dan 1 ml, lau ditambahkan 2 mL I<sub>2</sub> 2% lalu diencerkan sampai volume 100 mL. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm. Kurva standar merupakan hubungan antara kadar amilosa dan absorbansi.

#### 3.4.8.3.2 Penentuan kadar amilosa

Tepung singkong ditimbang 0,1 gram. Kemudian dimasukkan dalam gelas kimia 250 mL. Selanjutnya ditambahkan 1 mL etanol 95%. Lalu ditambahkan 9 mL NaOH 1 N dan dipanaskan dalam penangas air selama 10 menit. Lalu diencerkan menjadi 100 mL.

Larutan yang sudah diencerkan tersebut dipipet 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambhkan 60 mL

akuades. Selanjutnya dimasukkan 1 mL asam asetat 1 N dan juga ditambahkan 2 mL I<sub>2</sub> 2 % lalu diencerkan sampai volume 100 mL dan dikocok hingga homogen. Larutan yang terbentuk didiamkan selama 20 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm, lalu diukur kadar amilosa dengan rumus:

$$\text{Kadar amilosa (\%)} = \frac{A}{S} \times \frac{FP}{W} \times V \times 100$$

Keterangan:

- A = absorbansi contoh
- S = *slope* / kemiringan kurva
- FP = faktor pengenceran
- W = berat sampel (mg)
- V = Volume akhir sampel (ml)

#### 3.4.8.4 Penentuan kadar amilopektin [21].

Kadar amilopektin dihitung berdasarkan selisih antara kadar pati dan amilosa

#### 3.4.8.5 Penentuan daya pengembang serbuk [22].

Serbuk ditimbang masing-masing 1 g lalu dimasukkan dalam 2 tabung sentrifuge lalu dilarutkan dengan dua macam pelarut (etanol dan akuades), kemudian dikocok dan dibiarkan selama 1 jam. Kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Setelah itu dilihat kenaikan daya pengembang pada tabung reaksi. Persen daya pengembang dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ daya pengembang} = \frac{TSA - TSE}{TSE} \times 100\%$$

Keterangan:

TSA = tinggi serbuk yang disuspensikan dengan air (cm)

TSE = tinggi serbuk yang disuspensikan dengan etanol (cm)

#### 3.4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari kadar asam laktat dari fermentasi *Bacillus firmus* dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pola rancangan acak lengkap sederhana (RAL), dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) 5%.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



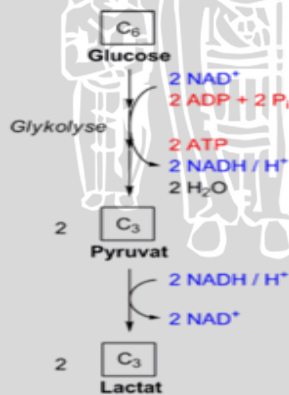
## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

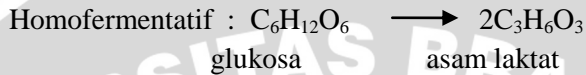
Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu penyiapan media padat dan media cair, peremajaan biakan kultur *Bacillus firmus*, pembuatan kurva *Bacillus firmus*, penentuan kondisi optimum *Bacillus firmus* serta dilakukan berbagai pengujian dengan menggunakan media terfermentasi *Bacillus firmus* seperti pengujian kadar pati yang meliputi kadar amilosa dan amilopektin serta daya pengembang serbuk.

Pada penelitian fermentasi singkong ini digunakan bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif yaitu fermentasi bakteri asam laktat yang hanya menghasilkan asam laktat pada proses akhirnya. Bakteri homofermentatif mengubah 85% gula yang digunakan terutama glukosa menjadi asam laktat. Pada jalur bersifat homofermentatif mencakup tahap pertama dari semua reaksi glikolisis yang mengarah dari heksosa untuk piruvat [23]. Pada Gambar 4.1 ditunjukkan proses fermentasi glukosa menjadi asam laktat.

Gambar 4.1 Alur glukosa menjadi asam laktat



Pada golongan heterofermentatif bakteri menghasilkan asam laktat kurang dari 85% selain itu juga dihasilkan misalnya asam asetat, etanol, CO<sub>2</sub>, dan sebagainya [10]. Reaksi fermentasi glukosa menggunakan bakteri homofermentatif yang terjadi menurut Salle [15] adalah sebagai berikut:



*Bacillus firmus* merupakan kelompok bakteri asam laktat yang mempunyai kemampuan untuk membentuk asam laktat sebagai hasil utama dari metabolisme karbohidratnya [24].

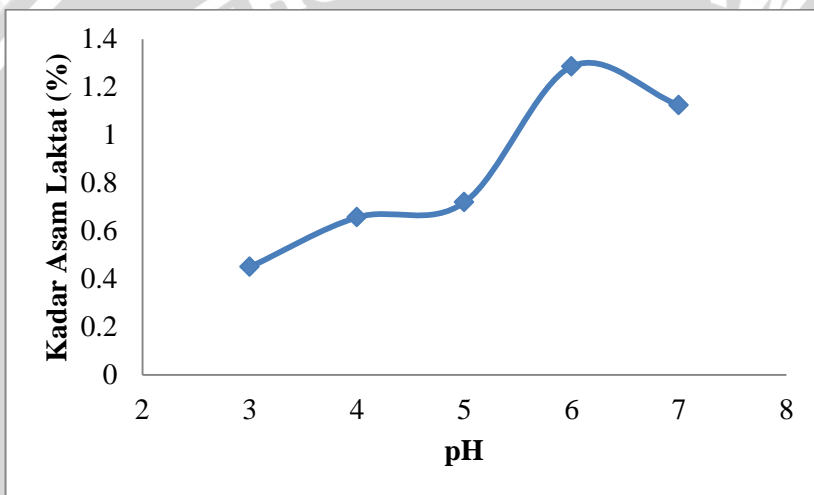
Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi adalah pH, suhu dan waktu inkubasi. Suhu sangat berpengaruh pada proses fermentasi karena apabila suhu mengalami kenaikan, maka proses reaksi dapat berlangsung lebih cepat dikarenakan semua proses laju reaksi dipengaruhi oleh suhu. Namun diatas suatu temperatur kritis, panas dapat mendenaturasi protein [25]. Waktu inkubasi berpengaruh pada proses fermentasi karena bakteri memiliki fase pertumbuhan dan untuk fermentasi dipilih fase logaritmik, karena pada fase tersebut bakteri mengalami pertumbuhan yang sangat cepat sehingga produk hasil fermentasi yang dihasilkan maksimum [23]. Oleh karena itu perlu ditentukan kondisi pH, suhu dan waktu optimum fermentasi asam laktat.

#### **4.1 Penentuan Kondisi Optimum *Bacillus firmus* pada Fermentasi Singkong**

##### **4.1.1 Penentuan pH optimum**

Proses penentuan suhu optimum menggunakan metode titrimetrik yang didasarkan pada reaksi asam-basa yang mana menggunakan NaOH sebagai larutan titran standar. Pada penentuan suhu optimum *Bacillus firmus*, dilakukan variasi pH yaitu 3, 4, 5, 6, 7 dan 8. Dilakukan pada range tersebut karena Sifat-sifat bakteri asam laktat adalah tumbuh pada pH 3,8-8,0[26].

Pada Gambar 4.2, terlihat bahwa terdapat peningkatan kadar asam laktat pada pH 3 hingga pH 5. Pada pH 6 pertumbuhan bakteri telah mencapai titik optimum dimana bakteri membelah dengan cepat dan cepat sehingga produk asam laktat yang dihasilkan mencapai titik maksimum. Sedangkan pada pH 7 terjadi penurunan asam laktat diakibatkan jumlah nutrient tidak lagi seimbang dengan jumlah bakteri, sehingga lama kelamaan bakteri akan mati, hal ini ditunjukkan dengan penurunan kadar asam laktat.



Gambar 4.2 Grafik pengaruh pH terhadap kadar asam laktat

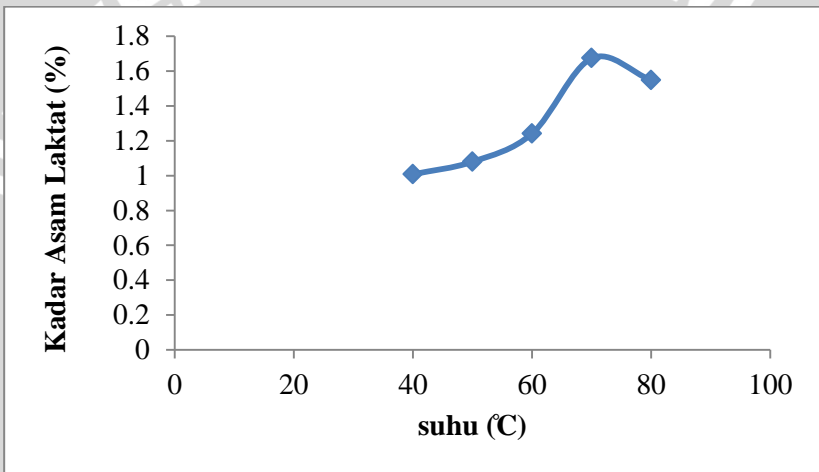
Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa ada pengaruh yang nyata (taraf nyata  $\alpha = 0,05$ ) variasi pH terhadap kadar asam laktat *Bacillus firmus* ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ ). Pada pH 6 dan 7 terdapat beda nyata dari hasil analisis statistik. Pada Gambar 4.2 dan data analisis statistik dapat disimpulkan bahwa pH optimum fermentasi singkong dengan bakteri *Bacillus firmus* adalah pH 6 dengan kadar asam laktat sebesar 1,29%.

#### 4.1.2 Penentuan suhu optimum



Proses penentuan suhu optimum juga menggunakan metode titrimetrik. Pada penentuan suhu optimum merupakan serangkaian atau lanjutan dari penentuan pH optimum, dimana sebelumnya telah diketahui kondisi pH optimum dari *Bacillus firmus* pada pH 6.

Pada penentuan suhu optimum *Bacillus firmus*, dilakukan variasi suhu yaitu 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C dan pH yang digunakan adalah pH optimum yaitu pH 6, serta waktu yang digunakan adalah 6 jam. Pengaruh suhu dalam fermentasi singkong untuk menghasilkan asam laktat dapat ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Grafik Pengaruh Suhu Terhadap Kadar Asam Laktat

Suhu optimum adalah suhu dimana dihasilkan singkong dengan kadar asam laktat paling tinggi. Pada gambar 4.3 menunjukkan bahwa kadar asam laktat paling tinggi berada pada suhu 70 °C dengan kadar asam laktat sebesar 1,67%, sehingga suhu ini digunakan untuk penentuan waktu inkubasi.

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa dengan meningkatnya suhu maka kadar asam laktat cenderung meningkat pula. Pada umumnya pertumbuhan dan aktivitas bakteri akan meningkat seiring dengan peningkatan suhu, tetapi pada suhu lewat optimum maka aktivitas bakteri kembali menurun karena enzim terdenaturasi, akibatnya

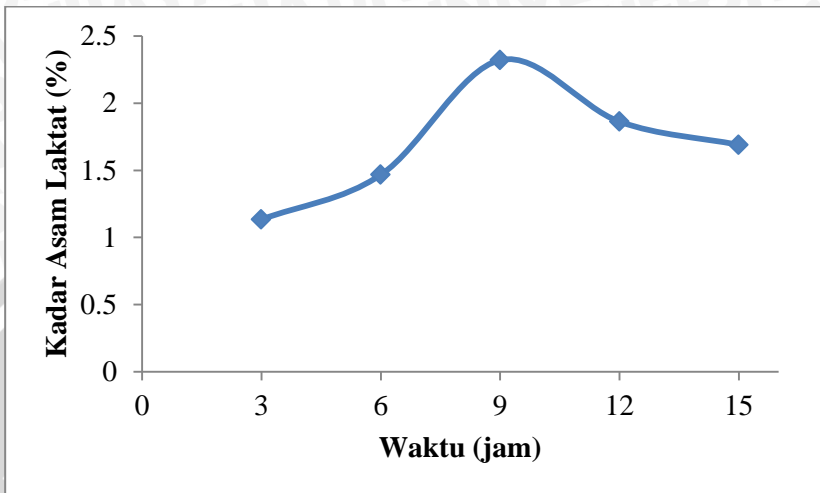
enzim yang dihasilkan berkurang sehingga kemampuan untuk mengubah glukosa menjadi asam laktat juga semakin berkurang.

Pada suhu optimum, bakteri menghasilkan enzim paling maksimal. Banyaknya enzim yang dihasilkan sangat berpengaruh terhadap asam laktat yang terbentuk, semakin banyak enzim yang dihasilkan maka semakin banyak glukosa yang dapat diubah menjadi asam laktat. Sehingga pada suhu tersebut asam laktat yang terbentuk akan terionisasi menghasilkan ion hidrogen bebas. Sehingga jika asam laktat yang terbentuk banyak maka semakin banyak pula ion hidrogen bebas yang dihasilkan.

Berdasarkan perhitungan uji statistik dan analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh yang sangat nyata pada fermentasi singkong akibat pengaruh suhu inkubasi terhadap kadar asam laktat. Berdasarkan uji BNT (5%) pada Lampiran 7, table L.7.1.2.2 menunjukkan bahwa perlakuan temperatur 70 °C berbeda nyata terhadap temperatur 40 °C, 50 °C, 60 °C dan 80 °C. Selain itu juga didapatkan suhu optimum untuk menghasilkan asam laktat yaitu pada suhu 70°C.

#### **4.1.3 Penentuan waktu inkubasi optimum**

Proses penentuan waktu inkubasi optimum ditentukan menggunakan metode titrimetrik, dimana waktu inkubasi pada penelitian ini adalah waktu yang dibutuhkan oleh bakteri dengan substrat untuk menghasilkan produk. Penelitian waktu inkubasi optimum dalam fermentasi dilakukan dengan variasi waktu 3, 6, 9, 12, dan 15 jam, dengan pH inkubasi optimum adalah 6 dan suhu inkubasi optimumnya 70°C.



Gambar 4.4. Grafik Pengaruh Waktu Terhadap Kadar Asam Laktat

Berdasarkan hasil analisis statistik pada Lampiran 7, Tabel L.7.1.3.2 menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata antara variasi waktu inkubasi terhadap kadar asam laktat. Peningkatan waktu inkubasi dapat meningkatnya jumlah produk yang dihasilkan, karena semakin banyak enzim yang dihasilkan maka semakin banyak produk yang terbentuk. Namun pada batas waktu tertentu, aktivitas enzim mencapai maksimal yang disebut dengan waktu inkubasi optimum.

Pada penelitian ini, waktu optimum adalah waktu dimana dihasilkan kadar asam laktat paling tinggi. Semakin lama waktu inkubasi semakin banyak pula bakteri yang berikatan dengan substrat sehingga produk yang dihasilkan semakin banyak. Tetapi setelah melewati batas waktu inkubasi optimum maka aktivitas bakteri akan menurun karena semua substrat telah habis berikatan dengan bakteri. Sehingga akibatnya bakteripun ikut habis atau mati. Waktu inkubasi 9 jam dinyatakan sebagai waktu inkubasi optimum karena pada waktu inkubasi 9 jam aktivitas bakteri optimal menghasilkan asam laktat yang optimal yaitu sebesar 2,32%.

## 4.2 Uji Kualitas Tepung Singkong Fermentasi dan Singkong Non-Terfermentasi

Setelah didapatkan kondisi optimum menggunakan *Bacillus firmus*, selanjutnya dibandingkan kadar pati, kadar amilosa, kadar amilopektin dan daya pengembang serbuk antara singkong yang difermentasi dengan yang tidak difermentasi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Perbandingan kadar pati, amilosa, amilopektin pada tepung singkong non fermentasi dan fermentasi

<b>Perbandingan</b>	<b>Singkong Fermentasi</b>	<b>Singkong Non Fermentasi</b>
Kadar Pati (%)	87,69	83,08
Kadar Amilosa (%)	7,42	6,40
Kadar Amilopektin (%)	80,27	76,68
Daya Pengembang Serbuk (%)	50	40

Menurut Suriawiria [27], selain dapat merubah karbohidrat menjadi asam laktat, bakteri asam laktat juga menghasilkan senyawa tertentu yang dapat meningkatkan nilai organoleptik makanan dan minuman, termasuk rasa dan bau yang mengundang selera serta memperbaiki penampilan.

Selain itu dengan semakin tingginya kadar asam laktat, maka semakin kuat pula menghancurkan dinding sel singkong sedemikian rupa sehingga terjadi liberasi granula pati. Proses liberalisasi ini akan menyebabkan perubahan karakteristik dari tepung yang dihasilkan berupa naiknya viskositas, kemampuan gelasi, daya rehidrasi, dan kemudahan melarut [28]. Selanjutnya granula pati tersebut akan mengalami hidrolisis yang menghasilkan monosakarida sebagai bahan baku untuk menghasilkan asam-asam organik. Senyawa asam ini akan terimbibisi dalam bahan, dan ketika bahan tersebut diolah akan dapat menghasilkan aroma dan cita rasa khas yang dapat

menutupi aroma dan citarasa singkong yang cenderung tidak menyenangkan konsumen [8].

Berdasarkan Tabel 4.1, terlihat adanya peningkatan kadar pati, amilosa, amilopektin dan juga daya pengembang serbuk. Berdasarkan perbandingan kadar amilosa dan amilopektin terlihat kecenderungan singkong yang terfermentasi mempunyai amilopektin yang relatif lebih tinggi. Menurut Muchtadi dkk [29] kandungan amilopektin tinggi akan meningkatkan kemampuan mengikat air lebih besar sehingga mempengaruhi tekstur, bersifat ringan, kering dan renyah. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa daya pengembang serbuk lebih tinggi. Lebih lanjut dijelaskan oleh Matz dkk [30], bahwa pati yang banyak mengandung amilopektin (amilosa rendah) tidak membentuk gel yang kukuh dan pasta yang dihasilkan lebih lunak atau disebut *long texture*. Pada saat pengembangan dengan penggorengan setelah gel tersebut kering mempunyai kecenderungan merenggang daripada patah, sehingga tingkat pengembangannya lebih besar.

Jika dibandingkan dengan tepung terigu yang memiliki kandungan pati sebesar 65-70%, maka bisa dikatakan tepung singkong terfermentasi memiliki kandungan pati yang lebih baik yaitu sebesar 87,69%.

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Kondisi optimum fermentasi singkong menggunakan *Bacillus firmus* terjadi pada pH 6, suhu 70 °C dan waktu inkubasi 9 jam.
2. Komposisi pati, amilosa, amilopektin dan daya pengembang serbuk tepung singkong fermentasi menggunakan *Bacillus firmus* terjadi peningkatan dibandingkan dengan singkong non fermentasi.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

1. Perlu adanya pengisolasian bakteri asam laktat dari sumber-sumber lain yang mempunyai kemampuan lebih baik dalam fermentasi singkong.
2. Aktivitas enzim-enzim yang terdapat pada bakteri asam laktat sehingga dapat menjelaskan tentang proses fermentasi singkong.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1].Media Data Riset. 2010. **Tepung Singkong di Indonesia**. <http://www.mediatdata.co.id/>, diakses tanggal 7 Juli 2011.
- [2].Subagio, A. 2007. **Industrialisasi *Modified Cassava Flour (Mocal)* Sebagai Bahan Baku Industri Pangan Untuk Menunjang Diversifikasi Pangan Pokok Nasional**. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Jember. Jember.
- [3].Chelule, P.K., Mokoena, M.P., and Gqaleni, N., 2010. **Advantages of Traditional Lactic Acid Bacteria Fermentation of Food in Africa**. Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. A. Mendez-Villas.
- [4].Kusuma, E.F. 2010. **Analisa pH Optimum Untuk Perkembangbiakan *Lactobacillus bulgaricus* Dalam Proses Fermentasi Fruktosa Pada Susu Menjadi Asam Laktat**. Proqram Studi Diploma III Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- [5].Sianturi, D.C., 2008, **Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara**, Tesis, Universitas Sumatera Utara, hal 7-34.
- [6].Rukmana, R.,1997. **Ubi Kayu**. Kanisius. Yogyakarta.
- [7].Chan, H. T., JR. 1983. **Handbook Of Tropical Foods**. Marcel Dekker Inc. New York and Bassel.
- [8].Salim, E.,2011. **Mengolah Singkong Menjadi Tepung Mocaf**. Lily Publisher. Yogyakarta.
- [9].Tjokroadikoesoemoe, P.S. 1986. **HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya**. Gramedia.Jakarta.
- [10].Winarno, F.G. 1986. **Kimia Pangan dan Gizi**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- [11].Anonim. 2011. **Analisis Efisiensi Teknis dengan Pendekatan Frontier pada Usaha Pembuatan Chips MOCaf (Modified Cassava Flour)**. <http://www.docsfinder.com/tepung-mocaf-pdf.html>, diakses tanggal 7 Juli 2011.
- [12].Salminen S. and Wright, A V., 1988, **Lactid Acid Bacteria Mikrobiology and Functional Aspect**, 2<sup>th</sup> edition, Marcel Dekker, Inc, New York.
- [13].Lerroy, F., 1996, **Effect of Inoculation With Lactic Acid Bacteria on Extending The Seltllife of Vacum Packed Cold Smoke Salmon**, J Food Sci and Technology, 31 :491-504.
- [14].Pato, U, 2003. **Potensi Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker**. Jurnal Natur Indonesia 5(2): 162-166.
- [15]. Salle, A.S. 1968. **Fundamental Principles of Bacteriology**. Fifth Edition, Mc Graw Hill Book Company, Inc. New York.
- [16]. Fardiaz., 2003, **Microbiologi Pangan**, PAU Pangan dan Gizi, IPB Bogor, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- [17]. Oboh G. 2005. **Isolation And Characterization Of Amylase From Fermented Cassava (Manihot Esculenta Crantz) Waste Water**. African Journal of Biotechnology. 4: 1117–1123.
- [18].Mc Kee, T dan R.M. James. 2003. **Biochemistry : The Molecular Basic of Life, 3th ed**. Mc Graw Hill. Philadelphia.
- [19].West, E.S. and W.R. Tood, 1964. **Text Book of Biochemistry**. Mc.Millan Co. New York.
- [20].AOAC. 1970. **Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists**. Washington : AOAC.
- [21].Juliano., 1971, **A Simplified Assay for Milled Rice Amylose Measurement**, J. Cereal Sci (16):334-336.
- [22].Halim, A. 1990. **Tepung Sebagai Bahan Pembantu Sediaan Obat , Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Edisi**

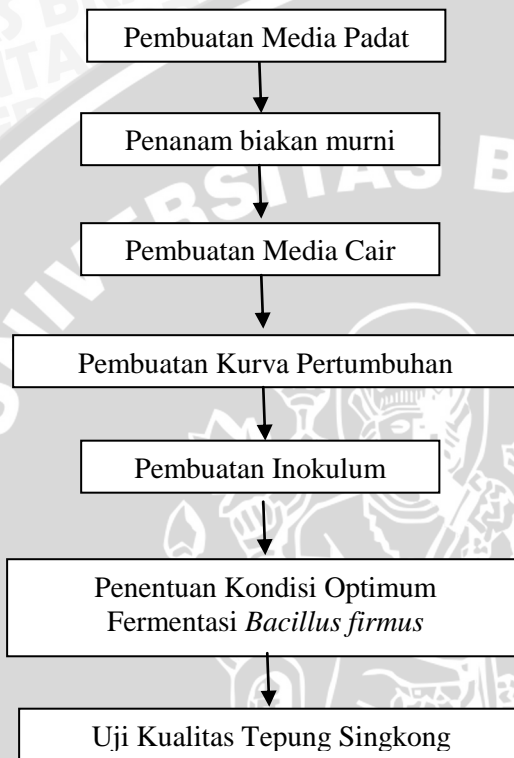


*Khusus Kesehatan dan Pengetahuan Alam* . Penerbit Universitas.

- [23].Fardiaz, S., 1988, **Mikrobiologi Pangan 1**, Jurusan Teknologi dan Gizi, Fakultas Pertanian, IPB Bogor, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- [24].Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H. dan Wotton, N. 1987. **Food Science (Diterjemahkan oleh H.Purnomo dan Adiono dalam Ilmu Pangan)**. Universitas Indonesia. Jakarta.
- [25].Kandel, J., dan Mc Kane, L. 1986. **Microbiology Essensial and Application**. Mc Graw Hill Book Company, New York.
- [26].Stamer, J.R., 1979, **The lactic Acid Bacteria ; Microbies of Diversty Food Technology**, pp 60-65. Dalam Chan, I.S., 2002, **Pengaruh Jenis Starter dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Asam Laktat Dari Limbah Kubis**, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Lampung.
- [27]Suriawiria, U. 2002. **Ubi Jalar**.  
<http://www.kompas.com/kompascetak/0209/25/iptek/ubij31.htm>, diakses tanggal 13 Desember 2006
- [28].Isdiyanto, A. 2011. **Sekilas Tentang Mocaf**.  
<http://tapiokapati.wordpress.com/>, diakses tanggal 6 April 2011.
- [29].Muchtadi, T.R., Purwiyatno, dan A. Basuki. 1988. **Teknologi Pemasakan Ekstrusi**. PAU. IPB. Bogor.
- [30].Matz, S.A. 1976. **Snack Food Technology**. AVI. Westport.

## LAMPIRAN

### Lampiran A. Alur Penelitian



## Lampiran B. Diagram Kerja Penelitian

### B.2.1 Pembuatan media padat

1 g pepton, 2,8 g agar, 0,6 g Lab Lamco Powder, 4 g glukosa, 2 g *yeast extract*

- dilarutkan dengan 200 mL akuades
- dipanaskan hingga mendidih
- dipipet media masing-masing 5 mL
- dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditutup kapas
- disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit
- diletakkan posisi miring
- dibiarkan mengeras pada suhu kamar

Media Padat

### B.2.2 Penanaman biakan murni

Bakteri dari biakan murni

- dipindahkan sebanyak 1 mata ose ke dalam media padat secara aseptis
- diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam di inkubator

Bakteri tumbuh pada media padat

### B.2.3 Pembuatan media cair

1,5 g pepton, 0,9 g Lab Lamco Powder, 6 g glukosa, 2,8 g *yeast extract*

- dilarutkan dalam 300 mL akuades
- dipipet masing-masing 100 mL
- dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL
- ditutup dengan kapas
- disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit

Media Cair

### B.2.4 Pembuatan kurva pertumbuhan

Bakteri tumbuh pada media padat

- diambil sebanyak 3 mata ose
- dipindahkan secara aseptis ke dalam 100 mL media cair
- diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang selama 24 jam
- dipipet sebanyak 1 mL setiap 3 jam
- diencerkan dengan akuades hingga volum 10 mL
- diukur densitas optiknya dengan spektronik-20 pada panjang gelombang 620 nm
- dibuat kurva hubungan waktu inkubasi dengan densitas optik.

Data

## B.2.5 Pembuatan inokulum

Bakteri tumbuh pada media padat

- diambil satu ose dan dipindahkan secara aseptis dalam 25 mL media cair
- diinkubasi dalam inkubator Diinkubasi pada ikubator selama setengah fase logaritmiknya

Larutan inokulum

## B.2.6 Penentuan kondisi optimum

### B.2.6.1 pH optimum

5 gram singkong

- dipotong kecil-kecil
- ditempatkan pada 5 erlenmenyer masing-masing 50 mL
- ditambahkan 8 mL inokulum
- ditambahkan pH bervariasi pada tiap erlenmenyer (3, 4, 5, 6, dan 7)
- didinginkan dengan air mengalir selama 15 menit
- erlenmenyer ditutup rapat
- diinkubasi pada suhu 60 °C selama 6 jam
- dipisahkan singkong dari larutannya
- diuji kadar asam laktatnya
- dicatat dan dilihat pada pH berapa terjadi pH optimum

Hasil

### B.2.6.2 Suhu optimum

5 gram singkong

- dipotong kecil-kecil
- ditempatkan pada 5 erlenmeyer masing-masing 50 mL
- ditambahkan 8 mL inokulum
- ditambahkan larutan pH 6
- erlenmeyer ditutup rapat
- diinkubasi pada suhu bervariasi yaitu 40, 50, 60, 70, 80 °C selama 6 jam
- dipisahkan singkong dari larutannya
- diuji kadar asam laktatnya
- dicatat dan dilihat pada suhu berapa terjadi suhu optimum

Hasil

### L.2.6.3 Waktu inkubasi optimum

5 gram singkong

- dipotong kecil-kecil
- ditempatkan pada 5 erlenmeyer masing-masing 50 mL
- ditambahkan 8 mL inokulum
- ditambahkan larutan pH 6
- erlenmeyer ditutup rapat
- diinkubasi pada suhu 70 °C
- diinkubasi dengan variasi waktu inkubasi yaitu 3, 6, 9, 12, 15 jam
- dipisahkan singkong dari larutannya
- diuji kadar asam laktatnya
- dicatat dan dilihat pada waktu berapa terjadi waktu optimum

Hasil

## B.2.7 Uji kualitas tepung singkong

### B.2.7.1 Penentuan Kadar Asam Laktat

0,5 gram tepung singkong

- dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL
- ditambahkan 10 mL akuades
- diaduk hingga campuran homogen
- ditetesi pp 1% sebanyak 2 tetes
- ditirasi dengan 0,01 M NaOH
- dicatat volume titrasi
- dihitung kadar asam laktatnya

Hasil



## B.2.7.2 Penentuan kadar pati

### B.2.7.2.1 Pembuatan kurva standar glukosa

#### Glukosa Standar

- dibuat larutan glukosa standar (10 mg glukosa anhidrat /100 mL)
- dilakukan pengenceran 6 kali sehingga didapatkan larutan larutan glukosa dengan konsentrasi : 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/100ml
- disiapkan 7 tabung reaksi yang bersih, masing-masing diisi dengan 1 ml larutan glukosa standar tersebut di atas. Satu tabung diisi 1 ml air suling sebagai blangko
- Tambahkan ke dalam masing-masing tabung di atas 1 ml reagensia Nelson, dan semua tabung dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit
- tabung didinginkan
- setelah dingin tambahkan 1 ml reagensia Arsenomolybdat lalu digojog
- ditambahkan 7 mL aquades
- dihitung absorbansinya dengan spektrofotometer  $\lambda = 540 \text{ nm}$
- dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dan absorbansi

data



### B.2.7.2.2 Penentuan kadar pati dalam singkong

5 gram Singkong (tepung)

- dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL
- ditambahkan 50 mL akuades dan diaduk selama 1 jam
- disaring dan dipisahkan residu dengan filtratnya
- residu dicuci 5 kali dengan 10 mL
- dibiarkan sebentar agar eter menguap
- dicuci kembali dengan 150 mL alkohol 10%
- residu dipindahkan secara kuantitatif kedalam erlenmeyer
- dicuci dengan 200 mL akuades
- ditambahkan 20 mL HCL 25%
- dipanaskan diatas penangas air yang mendidih dengan pendingin balik
- dinetralkan dengan larutan NaOH 45%
- diencerkan dengan akuades hingga 500 mL

larutan

- dijernihkan dengan Pb-asetat
- dipipet 1 mL kedalam tabung reaksi
- ditambahkan 1 mL reagen Nelson
- dipanaskan pada penangas air selama 20 menit
- didinginkan
- ditambahkan reagen Arsenomolybdat dan digojog
- ditambahkan 7 mL akuades dan digojog
- diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 540 \text{ nm}$
- ditentukan kadar pati dengan menghubungkan nilai absorbansi dengan kurva standart larutan glukosa

Data

## B.2.7.4 Penentuan kadar amilosa

### B.2.7.4.1 Kurva standar amilosa

40 mg amilosa

- dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL
- ditambahkan 1 mL etanol 95%
- ditambah 9 mL NaOH 1 N
- dipanaskan pada penangas air selam 10 menit
- larutan dipipet kedalam 6 buah labu ukur 100 mL 1; 2; 3; 4 dan 5 mL
- masing-masing larutan ditambahkan asam asetat sebanyak 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,6 dan 1 mL
- ditambahkan 2 mL I<sub>2</sub> 2%
- diencerkan dengan akuades hingga 100 mL
- diukur absorbansinya dengan spektrofotometer  $\lambda = 620$
- dibuat hubungan antara konsentrasi amilosa terhadap absorbansinya

Data

#### B.2.7.4.2 Penentuan kadar amilosa

0,1 gram tepung singkong

- dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL
- ditambahkan 1 mL etanol 95 %
- ditambahkan 9 mL NaOH 1 N
- dibiarkan selama 23 jam atau dipanaskan dalam penangas air selama 1 jam
- diencerkan dengan akuades hingga 100 mL

Larutan

- dipipet 5 mL
- dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL
- ditambahkan 60 mL akuades
- ditambahkan 1 mL asam asetat 1 N
- ditambahkan I<sub>2</sub> 2%
- diencerkan dengan akuades hingga 100 mL
- dikocok hingga homogen
- dihitung absorbansinya dengan spektrofotometer dengan  $\lambda = 620 \text{ nm}$

Data

### B.2.7.5 Penentuan daya pengembang serbuk

1 gram tepung singkong

- dimasukkan dalam 2 buah tabung sentrifuge
- ditambahkan etanol pada tabung sentrifuge 1 hingga tanda tera
- ditambahkan akuades pada tabung sentrifuge 2 hingga tanda tera
- dikocok kedua tabung
- dibiarkan selama 1 jam
- disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit
- dilihat kenaikan daya pengembang pada kedua tabung

Data



### **C.3.1 Larutan NaOH 0,01 M**

Ditimbang NaOH 0,2 g kemudian dilarutkan dalam 50 mL akuades, dipindahkan ke dalam labu takar 500 mL dan ditambahkan akuades hingga tepat tanda batas dan dikocok hingga homogen.

### **C.3.2 Larutan NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2 M**

Ditimbang NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> sebanyak 2,4 g kemudian dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam beaker glass 100 mL, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

### **C.3.3 Larutan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 M**

Ditimbang Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> sebanyak 2,84 g kemudian dilarutkan dengan 50 mL akuades dalam beaker glass 100 mL, kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas.

### **C.3.4 Larutan buffer fosfat pH 7**

Sebanyak 100 mL larutan natrium dihidrogen fosfat 0,2 M dimasukkan dalam gelas beaker, lalu ke dalamnya dimasukkan pengaduk magnetik. Elektroda dipasangkan dan dicelupkan dalam larutan. Dilakukan penambahan dinatrium hidrogen fosfat 0,2 M sedikit demi sedikit ke dalam larutan hingga mencapai pH 7.

### **C.3.5 Larutan indikator Fenolftalen 1 %**

Fenolftalen 1 % dibuat dengan melarutkan fenolftalen 1 g dalam 100 mL etanol 70 %.

## **Lampiran D. Perhitungan Preparasi Larutan**

#### D.4.1 Larutan NaOH 0,01 M

Massa NaOH yang ditimbang untuk membuat larutan NaOH 0,01M sebanyak 500 mL dapat dihitung berdasarkan rumus berikut

$$\begin{aligned}\text{mol NaOH} &= [\text{NaOH}] \times V_{\text{larutan}} \\ &= 0,01 \text{ mol/L} \times 0,5 \text{ L} \\ &= 0,005 \text{ mol} \\ \text{massa NaOH} &= \text{mol NaOH} \times \text{BM NaOH} \\ &= 0,005 \text{ mol} \times 40 \text{ g/mol} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

Jadi, NaOH yang harus ditimbang untuk membuat larutan NaOH 0,01M adalah 0,2 gram.

#### D.4.2 Larutan natrium dihidrogen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 0,2 M

Larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,2 M dibuat sebanyak 100mL (Mr  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 120 \text{ g/mol}$ )

$$\begin{aligned}\text{mol NaH}_2\text{PO}_4 &= [\text{NaH}_2\text{PO}_4] \times V_{\text{larutan}} \\ &= 0,2 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 0,02 \text{ mol} \\ \text{massa NaH}_2\text{PO}_4 &= \text{mol NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{BM NaH}_2\text{PO}_4 \\ &= 0,02 \text{ mol} \times 120 \text{ g/mol} \\ &= 2,4 \text{ g}\end{aligned}$$

Jadi,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  yang harus ditimbang untuk membuat larutan  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,2 M adalah 2,4 g.

#### D.4.3 Larutan dinatrium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0,2 M

Larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,2 M dibuat sebanyak 100 mL (Mr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 142 \text{ g/mol}$ )

$$\begin{aligned}\text{mol Na}_2\text{HPO}_4 &= [\text{Na}_2\text{HPO}_4] \times V_{\text{larutan}} \\ &= 0,2 \text{ mol/L} \times 0,1 \text{ L} \\ &= 0,02 \text{ mol} \\ \text{massa Na}_2\text{HPO}_4 &= \text{mol Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{BM Na}_2\text{HPO}_4 \\ &= 0,02 \text{ mol} \times 142 \text{ g/mol} \\ &= 2,84 \text{ g}\end{aligned}$$

Jadi,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  yang harus ditimbang untuk membuat larutan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,2 M adalah 2,84 g.

#### D.4.4 Larutan buffer fosfat pH 7

Untuk mendapatkan larutan buffer dengan pH yang diharapkan dibuat dengan mencampur larutan natrium dihidrogen fosfat dan larutan dinatrium hidrogen fosfat (Lampiran L.3.1), berdasarkan persamaan dibawah ini:

$$\text{pH} = \text{pK}_a - \log \frac{[\text{Asam}]}{[\text{Garam}]}$$

Misalnya untuk membuat larutan buffer fosfat dengan pH 7, larutan natrium dihidrogen fosfat 0,2 M yang dicampurkan sebanyak 100 mL, maka volume larutan dinatrium hidrogen fosfat yang ditambahkan adalah:

$$\text{pK}_{a2} \text{ Asam fosfat} = 7,21$$

$$7 = 7,21 - \log \frac{(100\text{mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL})}{(V \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL})}$$

$$\log \frac{100}{V} = 0,21$$

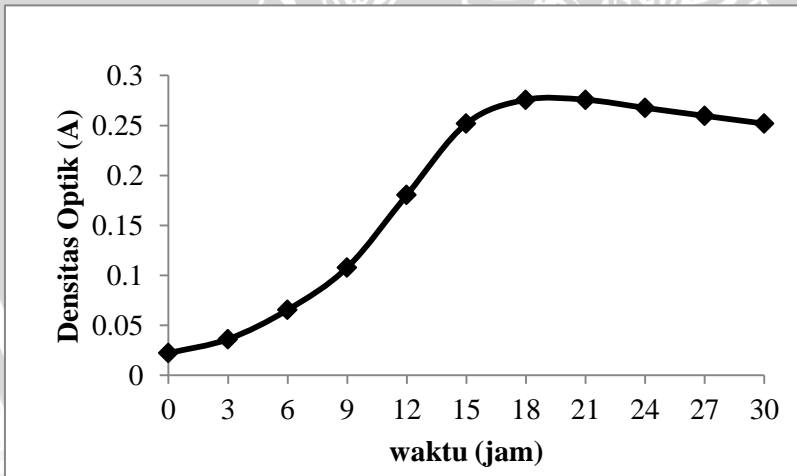
$$\frac{100}{V} = 1,62$$

$$V = 61,73 \text{ mL}$$

## Lampiran E. Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Tabel E.5.1 Densitas optik larutan

Waktu (jam)	A1	A2	A3	A Rerata
0	0.022	0.022	0.022	0.022
3	0.031	0.045	0.031	0.036
6	0.064	0.060	0.071	0.065
9	0.102	0.113	0.107	0.107
12	0.180	0.108	0.108	0.180
15	0.251	0.244	0.259	0.251
18	0.283	0.267	0.283	0.275
21	0.275	0.275	0.275	0.275
24	0.267	0.267	0.267	0.267
27	0.283	0.244	0.251	0.259
30	0.259	0.244	0.251	0.251



Gambar E.5.1 Kurva Pertumbuhan *Bacillus firmus*



## Lampiran F. Perhitungan Data

### F.6.1 Penentuan kadar asam laktat

#### F.6.1.1 Singkong Non -fermentasi

Tabel L.6.1.1. Data kadar asam laktat pengaruh waktu

Waktu (jam)	Volume Titrasi (mL)		V Rerata (mL)	Massa Sampel (g)	Kadar (%)
	V1	V2			
3	3,1	2,9	3,0	0,50	0,54
6	5,8	5,5	5,65	0,50	1,02
9	9,6	9,3	9,45	0,50	1,70
12	8,0	7,9	7,95	0,50	1,43
15	7,0	7,1	7,05	0,50	1,27

$$\text{Kadar asam laktat} = \frac{\text{volumetitrasererata (mL)} \times 90 \times 0,01 \times 100\%}{\text{massa sampel (g)} \times 1000}$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 3 jam} = \frac{30 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 0,54\%$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 6 jam} = \frac{5,65 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,02\%$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 9 jam} = \frac{9,45 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,70\%$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 12 jam} = \frac{7,95 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,43\%$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 15 jam} = \frac{7,05 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,27\%$$

## F.6.1.2 Singkong terfermentasi

### F.6.1.2.1 Pengaruh pH

Tabel F.6.1.2.1 Data kadar asam laktat dengan fermentasi pengaruh pH

pH	Volume Titrasi (mL)		V Rerata (mL)	Massa Sampel (g)	Kadar (%)
	V1	V2			
3	2,6	2,4	2,50	0,50	0,45
4	3,8	3,5	3,65	0,50	0,66
5	4,0	4,0	4,00	0,50	0,72
6	7,3	7	7,15	0,50	1,29
7	6,2	6,3	6,25	0,50	1,13

$$\text{Kadar asam laktat} = \frac{\text{volumetitrasererata (mL)} \times 90 \times 0,01 \times 100\%}{\text{massa sampel (g)} \times 1000}$$

$$\text{Kadar asam laktat pH 3} = \frac{2,50 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 0,45\%$$

$$\text{Kadar asam laktat pH 4} = \frac{3,60 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 0,66\%$$

$$\text{Kadar asam laktat pH 5} = \frac{4,00 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 0,72\%$$

$$\text{Kadar asam laktat pH 6} = \frac{7,15 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,29\%$$

$$\text{Kadar asam laktat pH 7} = \frac{6,25 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,13\%$$

### F.6.1.2.2 Pengaruh suhu

Tabel F.6.1.2.2 Data kadar asam laktat dengan fermentasi pengaruh suhu

Suhu (°C)	Volume Titration (mL)		V Rerata (mL)	Massa Sampel (g)	Kadar (%)
	V1	V2			
40	5,5	5,7	5,60	0,50	1,01
50	6,0	6,0	6,00	0,50	1,08
60	7,0	6,8	6,90	0,50	1,24
70	9,2	9,4	9,30	0,50	1,67
80	8,8	8,7	8,60	0,50	1,55

$$\text{Kadar asam laktat} = \frac{\text{volumetitrasirerata (mL)} \times 90 \times 0,01 \times 100\%}{\text{massa sampel (g)} \times 1000}$$

$$\text{Kadar asam laktat suhu } 40^\circ\text{C} = \frac{5,60 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,01\%$$

$$\text{Kadar asam laktat suhu } 50^\circ\text{C} = \frac{6,00 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,08\%$$

$$\text{Kadar asam laktat suhu } 60^\circ\text{C} = \frac{6,90 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,24\%$$

$$\text{Kadar asam laktat suhu } 70^\circ\text{C} = \frac{9,30 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,67\%$$

$$\text{Kadar asam laktat suhu } 80^\circ\text{C} = \frac{8,60 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,55\%$$

### F.6.1.2.3 Pengaruh waktu

Tabel F.6.1.2.3 Data kadar asam laktat dengan fermentasi pengaruh waktu

Waktu (jam)	Volume Titrasi (mL)		V Rerata (mL)	Massa Sampel (g)	Kadar (%)
	V1	V2			
3	6,4	6,2	6,30	0,50	1,13
6	8,1	8,2	8,15	0,50	1,47
9	13,0	12,8	12,90	0,50	2,32
12	10,4	10,3	10,35	0,50	1,86
15	9,2	9,4	9,30	0,50	1,69

$$\text{Kadar asam laktat} = \frac{\text{volumetitrasererata (mL)} \times 90 \times 0,01 \times 100\%}{\text{massa sampel (g)} \times 1000}$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 3 jam} = \frac{6,30 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,13\%$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 6 jam} = \frac{8,16 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,47\%$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 9 jam} = \frac{12,9 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 2,32\%$$

$$\text{Kadar asam laktat waktu 12 jam} = \frac{10,35 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,86\%$$

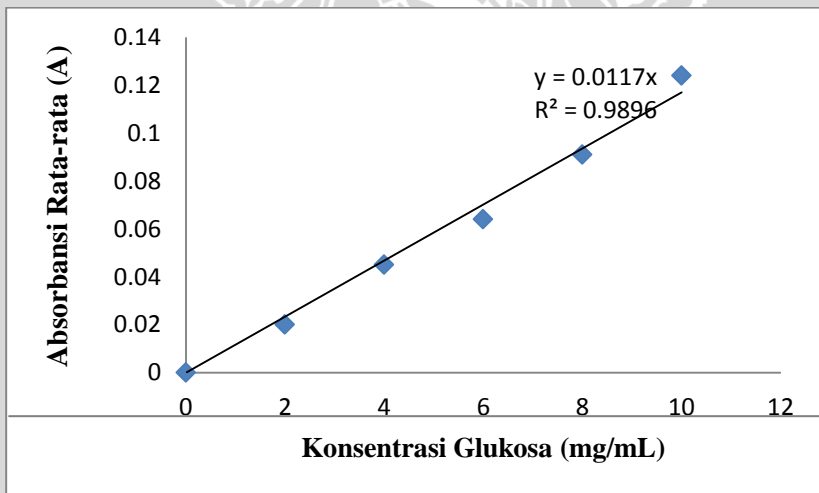
$$\text{Kadar asam laktat waktu 15 jam} = \frac{9,39 \times 90 \times 0,01}{0,5 \times 1000} \times 100\% = 1,69\%$$

## F.6.2 Pati

### F.6.2.1 Kurva standar glukosa

Tabel L.6.2.1 Data kurva standar glukosa

Konsentrasi Glukosa (mg/mL)	A1	A2	A3	A Rerata
0	0	0	0	0
2	0,020	0,020	0,020	0,020
4	0,045	0,045	0,045	0,045
6	0,064	0,064	0,064	0,064
8	0,091	0,091	0,091	0,091
10	0,124	0,124	0,124	0,124



Gambar F.6.2.1 Grafik Kurva Standar Glukosa

### F.6.2.2 Kadar pati

#### F.6.2.2.1 Singkong Fermentasi

Tabel F.6.2.2.1 Data kadar pati dengan fermentasi

Sampel (jam)	Absorbansi		Rerata Absorbansi	Massa Sampel (g)	Kemiringan kurva	Faktor Pengenceran	Kadar Pati %
	I	II					
3	0,0422	0,0421	0,0420	5	0,0117	1,25	80,77
6	0,0434	0,0436	0,0438	5	0,0117	1,25	84,23
9	0,0457	0,0458	0,0456	5	0,0117	1,25	87,69
12	0,0450	0,0449	0,0448	5	0,0117	1,25	86,15
15	0,0437	0,0435	0,0439	5	0,0117	1,25	84,42

$$\text{Kadar Pati} = \frac{\text{Absorbansi rata-rata}}{\text{kemiringan kurva}} \times \frac{\text{Faktor pengenceran}}{\text{Massa sampel (g)}} \times 100 \times 0,9$$

$$\text{Kadar pati sampel 3 jam} = \frac{0,042}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 80,77\%$$

$$\text{Kadar pati sampel 6 jam} = \frac{0,0438}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 84,23\%$$

$$\text{Kadar pati sampel 9 jam} = \frac{0,0456}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 87,69\%$$

$$\text{Kadar pati sampel 12 jam} = \frac{0,0448}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 86,15\%$$

$$\text{Kadar pati sampel 15 jam} = \frac{0,0439}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 84,42\%$$

### F.6.2.2.2 Singkong Non-Fermentasi

Tabel F.6.2.2.2 Data kadar pati non-fermentasi

Sampel (jam)	Sampel	Absorbansi		Rerata Absorbansi	Massa Sampel (g)	Kemiringan kurva	Faktor Pengenceran	Kadar Pati (%)
		I	II					
3	1	0,0388	0,0386	0,0387	5	0,0117	1,25	74,42
6	2	0,0421	0,0423	0,0422	5	0,0117	1,25	76,53
9	3	0,0436	0,0434	0,0432	5	0,0117	1,25	83,08
12	4	0,0426	0,0427	0,0425	5	0,0117	1,25	81,73
15	5	0,0419	0,0420	0,0418	5	0,0117	1,25	80,38

$$\text{Kadar Pati} = \frac{\text{Absorbansi rata-rata}}{\text{kemiringan kurva}} \times \frac{\text{Faktor pengenceran}}{\text{Massa sampel (g)}} \times 100 \times 0,9$$

$$\text{Kadar pati sampel 3 jam} = \frac{0,0387}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 74,42\%$$

$$\text{Kadar pati sampel 6 jam} = \frac{0,0398}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 76,53\%$$

$$\text{Kadar pati sampel 9 jam} = \frac{0,0432}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 83,08\%$$

$$\text{Kadar pati sampel 12 jam} = \frac{0,0425}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 81,73\%$$

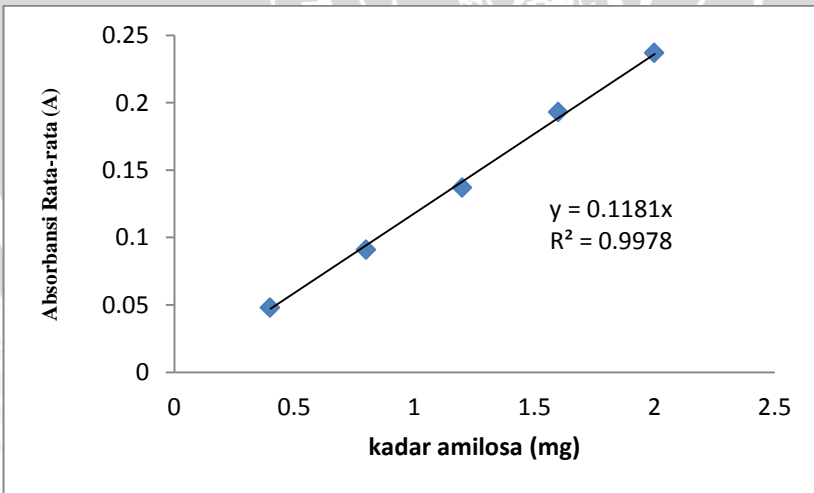
$$\text{Kadar pati sampel 15 jam} = \frac{0,0418}{0,0117} \times \frac{1,25}{5} \times 100 \times 0,9 = 80,38\%$$

### F.6.3 Amilosa

#### F.6.3.1 Kurva standar amilosa

Tabel F.6.3.1 Data kurva standar amilosa Standar Amilosa 40 mg/100ml

No	Amilosa Murni (mL)	Asam Asetat (mL)	Amilosa (mg)	Absorbansi Rata-rata Absorbansi		Rata-rata Absorbansi
				I	II	
1	1	0.2	0.4	0,046	0,047	0.048
2	2	0.4	0.8	0,092	0,090	0.091
3	3	0.6	1.2	0,137	0,137	0.137
4	4	0.8	1.6	0,195	0,194	0.193
5	5	1	2	0,237	0,237	0.237



Gambar F.6.3.1 Grafik Kurva Standar Amilosa



## F.6.3.2 Kadar amilosa

### F.6.3.2.1 Singkong Fermentasi

Tabel F.6.3.2.1 Data Kadar Amilosa Dengan Fermentasi Dengan variasi waktu

Sampel (jam)	Absorbansi		Rata-rata Absorbansi	Massa Sampel (mg)	Kemiringan kurva	Faktor Pengenceran	Kadar amilosa %
	I	II					
3	0,337	0,310	0.324	100	0.1181	0,02	5,49
6	0,357	0,367	0.362	100	0.1181	0,02	6,13
9	0,420	0,456	0.438	100	0.1181	0,02	7,42
12	0,398	0,377	0.388	100	0.1181	0,02	6,57
15	0,337	0,310	0.293	100	0.1181	0,02	4,96

$$\text{Kadar Amilosa} = \frac{\text{Absorbansirata - rata}}{\text{kemiringankurva}} \times \frac{\text{Faktorpengenceran}}{\text{Massasampel (mg)}} \times V (\text{ml}) \times 100$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 3 jam} = \frac{0,324}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 5,49\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 6 jam} = \frac{0,362}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 6,13\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 9 jam} = \frac{0,438}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 7,42\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 12 jam} = \frac{0,388}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 6,57\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 15 jam} = \frac{0,293}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 4,96\%$$

### F.6.3.2.2 Singkong non-fermentasi

Tabel F.6.3.2.2 Data kadar amilosa non-fermentasi

Sampel (jam)	Absorbansi		Rata-rata Absorbansi	Massa Sampel (mgram)	Kemiringan kurva	Faktor Pengenceran	Kadar amilosa %
	I	II					
3	0,223	0,231	0,227	100	0.1181	0,02	3,84
6	0,273	0,287	0,280	100	0.1181	0,02	4,74
9	0,379	0,377	0,378	100	0.1181	0,02	6,40
12	0,301	0,310	0,305	100	0.1181	0,02	5,17
15	0,252	0,237	0,244	100	0.1181	0,02	4,13

$$\text{Kadar Amilosa} = \frac{\text{Absorbansi rata-rata}}{\text{kemiringan kurva}} \times \frac{\text{Faktor pengenceran}}{\text{Massa sampel (mg)}} \times v \text{ (ml)} \times 100$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 3 jam} = \frac{0,227}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 3,84\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 6 jam} = \frac{0,280}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 4,74\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 9 jam} = \frac{0,378}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 6,40\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 12 jam} = \frac{0,305}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 5,17\%$$

$$\text{Kadar amilosa waktu 15 jam} = \frac{0,244}{0,1181} \times \frac{0,02}{100} \times 100 \times 100 = 4,13\%$$

## F.6.4 Daya Pengembang Serbuk

### F.6.4.1 Singkong Terfermentasi

Tabel F.6.4.1 Data daya pengembang serbuk singkong terfermentasi dengan variasi waktu

Sampel (jam)	Tinggi Serbuk Pada Tabung Berisi		Daya Pengembang (%)
	Air (cm)	Etanol (cm)	
3	2,4	2,1	14,29
6	2,4	2	20
9	3,0	2	50
12	2,8	2	40
15	2,8	2,1	33,33

$$\text{Daya pengembang} = \frac{\text{Tinggiserbukpadaair} - \text{Tinggiserbukpadaetanol}}{\text{Tinggiserbukpadaetanol}} \times 100\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 3 jam} = \frac{2,4 - 2,1}{2,1} \times 100\% = 14,29\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 6 jam} = \frac{2,4 - 2}{2} \times 100\% = 20\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 9 jam} = \frac{3,0 - 2}{2} \times 100\% = 50\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 12 jam} = \frac{2,8 - 2}{2} \times 100\% = 40\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 15 jam} = \frac{2,8 - 2,1}{2,1} \times 100\% = 33,33\%$$

### F.6.4.2 Singkong non -Fermentasi

Tabel L.6.4.2 Data daya pengembang serbuk dengan singkong non-Fermentasi dengan variasi waktu

Sampel (jam)	Tinggi Serbuk Pada Tabung Berisi		Daya Pengembang (%)
	Air (cm)	Etanol (cm)	
3	2,2	2	10
6	2,2	1,9	15,79
9	2,8	2,0	40
12	2,7	2,0	35
15	2,6	2,0	30

$$\text{Daya pengembang(\%)} = \frac{\text{Tinggiserbukpadaair} - \text{Tinggiserbukpadaetanol}}{\text{Tinggiserbukpadaetanol}} \times 100\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 3 jam} = \frac{2,2 - 2}{2} \times 100\% = 10\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 6 jam} = \frac{2,2 - 1,9}{1,9} \times 100\% = 15,79\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 9 jam} = \frac{2,8 - 2}{2} \times 100\% = 40\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 12 jam} = \frac{2,7 - 2}{2} \times 100\% = 35\%$$

$$\text{Daya Pengembang sampel 15 jam} = \frac{2,6 - 2}{2} \times 100\% = 30\%$$

### Lampiran G. Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh pH, suhu dan waktu inkubasi pada fermentasi singkong dengan menggunakan *Bacillus firmus* maka harus dianalisis dengan menggunakan pola RAL sebagai berikut:

### G.7.1 Penentuan kondisi optimum *Bacillus firmus* pada fermentasi singkong

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh tiap-tiap perlakuan, maka dilakukan uji F dengan langkah-langkah sebagai berikut:

Tabel G.7.1.1 Penentuan pH Optimum

pH	Kadar Asam Laktat		Total	Rerata
	I	II		
3	0,47	0,43	0,9	0,45
4	0,68	0,63	1,31	0,66
5	0,72	0,72	1,44	0,72
6	1,36	1,26	2,62	1,31
7	1,12	1,13	2,25	1,13
			8,52	

#### 1. Menghitung Faktor Korelasi (FK)

$$FK = \frac{\left[ \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right]^2}{np}$$

$$= \frac{(8,52)^2}{2 \times 5} = 7,25904$$

#### 2. Menghitung jumlah kuadrat (JK)

a. JK total =  $\left[ \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (Y_{ij})^2 \right] - FK$

$$= (0,47^2 + \dots + 1,13^2) - 7,259$$

$$= 1,01136$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. JK}_{\text{perlakuan}} (\text{JK}_p) &= \frac{\left[ \sum_{i=1}^p \left( \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2 \right]}{n_1} - \text{FK} \\
 &= \frac{(0,9 + \dots + 2,25^2)}{2} - 7,259 = 1,00426
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. JK}_{\text{galat percobaan}} (\text{JK}_G) &= \text{JK}_{\text{total}} - \text{JK}_{\text{perlakuan}} \\
 &= 1,01136 - 1,00426 \\
 &= 0,0071
 \end{aligned}$$

3. Menghitung kuadrat tengah (KT) setiap sumber keragaman

$$\begin{aligned}
 \text{a. Kuadrat Tengah}_{\text{perlakuan}} (\text{KT}_p) &= \frac{\text{JK}_p}{\text{db}_{\text{perlakuan}}} \\
 &= \frac{1,00426}{4} = 0,251065
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. Kuadrat Tengah}_{\text{galat percobaan}} (\text{KT}_G) &= \frac{\text{JK}_{GP}}{\text{db}_{\text{percobaan}}} \\
 &= \frac{0,0071}{5} = 0,00142
 \end{aligned}$$

4. Menghitung nilai F

$$F_{\text{hitung}} = \frac{\text{KT}_p}{\text{KT}_G} = \frac{0,251065}{0,00142} = 176,806338$$

Tabel G.7.1.1.1 Analisis ragam penentuan kondisi pH optimum

Sumber keragaman	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel(5%)</sub>
Perlakuan	4	1,0043	0,2511	176,8063	5,19
Galat Percobaan	5	0,0071	0,0014		
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>1,01136</b>			

5. Menghitung nilai BNT 5%

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } (\alpha) &= \frac{\alpha/2}{t_{dbg}} \sqrt{\frac{2KT_{\text{galat}}}{n}} \\
 &= 2,571 \sqrt{\frac{2 \times 0,00143}{2}} = 0,0969
 \end{aligned}$$

Tabel G.7.1.1.2 Hasil uji BNT 5% penentuan kondisi pH optimum

Perbandingan	Perbandingan	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	Notasi
	Rataan	0,45	0,66	0,72	1,31	1,13	
pH 3	0,45	0	0,21	0,27	0,86	0,68	a
pH 4	0,66		0	0,06	0,65	0,47	b
pH 5	0,72			0	0,59	0,41	b
pH 6	1,31				0	-0,18	c
pH 7	1,13					0	d

Keterangan:

- pH 3 berbeda nyata dengan pH 4, pH 5, pH 6 dan pH 7
- pH 4 tidak berbeda nyata dengan pH 5
- pH 5 berbeda nyata dengan pH 6 dan pH 7
- pH 6 berbeda nyata dengan pH 7
- pH optimum adalah pH 6

Tabel G.7.1.2 Penentuan suhu optimum

Suhu (°C)	Kadar Asam Laktat		Total	Rerata
	I	II		
30	0,99	1,03	2,02	1,01
35	1,08	1,08	2,16	1,08
40	1,26	1,22	2,48	1,24
45	1,66	1,69	3,35	1,68
50	1,58	1,57	3,15	1,58
			13,16	

FK	17,3186
JKT	0,7042
JKP	0,7021
JKG	0,021
KTP	0,1755
KTG	0,0004
F <sub>hitung</sub>	417,9405
F <sub>tabel(5%)</sub>	5,19
BNT 5%	0,05269

Tabel G.7.1.2.1 Analisis ragam penentuan kondisi suhu optimum

Sumber keragaman	db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel(5%)</sub>
Perlakuan	4	0,7021	0,1755	417,9405	5,19
Galat Percobaan	5	0,021	0,0004		
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>0,7042</b>			



Tabel G.7.1.2.2 Hasil uji BNT 5% penentuan kondisi suhu optimum

Perbandingan	Perbandingan	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	Notasi
	Rataan	1,01	1,08	1,24	1,68	1,58	
40°C	1,01	0	0,07	0,23	0,67	0,57	a
50°C	1,08		0	0,16	0,60	0,50	b
60°C	1,24			0	0,44	0,34	c
70°C	1,68				0	- 0,10	d
80°C	1,58					0	d

Keterangan:

- Suhu 40°C berbeda nyata dengan suhu 50°C, suhu 60°C, 70°C dan suhu 80°C
- Suhu 50°C berbeda nyata dengan suhu 60°C, 70°C dan suhu 80°C
- Suhu 60°C berbeda nyata dengan suhu 70°C dan suhu 80°C
- Suhu 70°C berbeda nyata dengan suhu 80°C
- Suhu optimum 70°C

Tabel G.7.1.3.1 Penentuan waktu optimum

Waktu (jam)	Kadar Asam Laktat		Total	Rerata
	I	II		
3	1,15	1,12	2,27	1,14
6	1,46	1,48	2,94	1,47
9	2,34	2,3	4,64	2,32
12	1,87	1,85	3,72	1,86
15	1,66	1,69	3,35	1,68
			16,92	

FK	28,6286
JKT	1,5669
JKP	1,5649
JKG	0,0021
KTP	0,3912
KTG	0,0004
$F_{hitung}$	931,4643
$F_{tabel(5\%)}$	5,19
BNT 5%	0,0527

Tabel G.7.1.3.1 Analisis ragam penentuan kondisi waktu optimum

Sumber keragaman	db	JK	KT	$F_{hitung}$	$F_{tabel(5\%)}$
Perlakuan	4	1,5649	0,3912	931,4643	5,19
Galat Percobaan	5	0,0021	0,0004		
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>1,5669</b>			

Tabel L.7.1.3.2 Hasil uji BNT 5% penentuan kondisi waktu optimum

Perbandingan	Perbandingan	3 jam	6 jam	9 jam	12 jam	15 jam	Notasi
	Rataan	1,14	1,47	2,32	1,86	1,68	
3 jam	1,14	0	0,33	1,18	0,72	-0,54	a
6 jam	1,47		0	0,85	0,39	-0,21	b
9 jam	2,32			0	-0,46	-0,64	c
12 jam	1,86				0	-0,18	d
15 jam	1,68					0	d

Keterangan:

- 3 jam berbeda nyata dengan 6 jam, 9 jam, 12 jam dan 15 jam
- 6 jam berbeda nyata dengan 9 jam, 12 jam dan 15 jam
- 9 jam berbeda nyata dengan 12 jam dan 15 jam
- 12 jam berbeda nyata dengan 15 jam

- Waktu optimum adalah 12 jam

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

