

**KADAR ANTINUTRISI, PROFIL PROTEIN, DAN KARAKTERISTIK
TEPUNG TALAS (*Colocasia esculenta*) YANG DIFERMENTASI DENGAN
MENGUNAKAN BAKTERI *Lactobacillus plantarum***

TESIS



Oleh:

**MARIA NATALIA WEWO
NIM: 156090200111007**

**PROGRAM STUDI S2 KIMIA
BIDANG KEKHUSUSAN BIOKIMIA**

**PROGRAM PASCA SARJANA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

**KADAR ANTINUTRISI, PROFIL PROTEIN, DAN KARAKTERISTIK
TEPUNG TALAS (*Colocasia esculenta*) YANG DIFERMENTASI DENGAN
MENGUNAKAN BAKTERI *Lactobacillus plantarum***

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Magister Sains dalam Bidang Kimia



Oleh:

**MARIA NATALIA WEWO
NIM: 156090200111007**

**PROGRAM STUDI S2 KIMIA
BIDANG KEKHUSUSAN BOKIMIA**

**PROGRAM PASCA SARJANA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2018

TESIS

**KADAR ANTINUTRISI, PROFIL PROTEIN, DAN KARAKTERISTIK
TEPUNG TALAS (*Colocasia esculenta*) YANG DIFERMENTASI DENGAN
MENGUNAKAN BAKTERI *Lactobacillus plantarum***

Oleh:

MARIA NATALIA WEWO

156090200111007

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 25 Juli 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains dalam bidang Ilmu Kimia

**Menyetujui
Komisi Pembimbing**

Ketua

Anggota

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS

NIP. 19630404 198701 1 001

Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes

NIP. 19720326 200212 2 001

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Pascasarjana Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

Siti Mariyah Ulfa, S.Si, M.Sc, Dr.Sc

NIP. 19810406 200502 2 009

KADAR ANTINUTRISI, PROFIL PROTEIN, DAN KARAKTERISTIK TEPUNG TALAS (*Colocasia esculenta*) YANG DIFERMENTASI DENGAN MENGUNAKAN BAKTERI *Lactobacillus plantarum*

Nama : Maria Natalia Wewo

NIM : 156090200111007

Program Studi : Kimia

Bidang Minat : Biokimia

KOMISI PEMBIMBING

Ketua : Dr. Sasangka Prasetyawan, MS

Anggota : Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes

TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS

Dosen Penguji 2 : Anna Safitri, S.Si, M.Sc, Ph.D

Tanggal Ujian : 25 Juli 2018

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Maria Natalia Wewo

NIM : 156090200111007

Program Studi : Kimia

Bidang Minat : Biokimia

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa dalam Naskah Tesis saya ini tidak terdapat unsur-unsur plagiasi karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam Naskah Tesis ini terdapat unsur-unsur plagiasi, maka saya bersedia Tesis ini untuk digugurkan dan gelar akademik saya dicabut.

Sesuai dengan aturan perundang-undangan yang berlaku (UU. No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 25 Juli 2018

Yang Membuat Pernyataan,

Maria Natalia Wewo

NIM. 156090200111007

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

Nama Lengkap : Maria Natalia Wewo

Tempat dan Tanggal Lahir : Nangaroro, 16 Maret 1991

Jenis Kelamin : Perempuan

Agama : Katolik

Alamat : Mauara Keo Tengah Nagekeo NTT

Email : nataliawewo@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SD Katolik Nangaroro (1996-2002)
2. SMP Negeri 1 Nangaroro (2002-2005)
3. SMA Negeri 1 Ende (2005-2008)
4. S1 Program Studi Pendidikan Kimia, Jurusan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Cendana Kupang (2008-2013)
5. S2 Program Studi Ilmu Kimia, Kekhususan Biokimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang (2015-2018).

RINGKASAN

Maria Natalia Wewo. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. 2018. **Kadar Antinutrisi, Profil Protein, dan Karakteristik Tepung Talas (*Colocasia esculenta*) yang Difermentasi dengan Menggunakan Bakteri *Lactobacillus plantarum***. Ketua Komisi Pembimbing: Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, Anggota Komisi Pembimbing Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes.

Umbi talas adalah salah satu tanaman penyedia karbohidrat dan nutrisi yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan makanan. Akan tetapi umbi talas juga mengandung senyawa antinutrisi berupa oksalat. Senyawa ini menyebabkan rasa gatal ketika dikonsumsi dan terbentuknya endapan kristal kalsium oksalat dalam ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk menurunkan antinutrisi dalam umbi talas dengan metode fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum*. Pada penelitian ini terdapat 2 tahapan yakni: (1) persiapan proses fermentasi umbi talas menggunakan *Lactobacillus plantarum*, (2) fermentasi pada kondisi optimum dan analisis hasil. Penentuan kondisi optimum fermentasi didasarkan pada kandungan terendah oksalat dalam umbi talas. Kondisi optimum proses fermentasi antara lain pH, suhu, dan waktu inkubasi. Variasi pH yang digunakan adalah 4; 4,5; 5; 5,5; 6, dan variasi suhu adalah (30, 35, 40, 45, 50) °C, serta variasi waktu inkubasi adalah (6, 12, 24, 36, 48) jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum fermentasi umbi talas adalah pada pH 5 dengan suhu 35 °C dan selama 48 jam. pH, suhu, dan waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan kadar oksalat dalam umbi talas setelah difermentasi ($p < 0,05$). Hasil analisis profil protein menunjukkan perubahan profil protein sebelum difermentasi dan setelah difermentasi. Setelah difermentasi terdapat beberapa pita protein yang hilang. Protein yang hilang ini diduga sebagai protein yang membentuk kompleks alergenik dengan oksalat yang sering menimbulkan rasa gatal ketika dikonsumsi. Karakter pada tepung talas setelah difermentasi mengalami peningkatan pada kadar pati sebesar 0,96%, kadar amilosa sebesar 0,43%, kadar amilopektin sebesar 0,52%, dan kadar protein sebesar 0,99%.

SUMMARY

Maria Natalia Wewo. Postgraduate Program, Brawijaya University. 2018.

Antinutritional Content, Protein Profiles, and Flour Characteristics of Taro Tubers (*Colocasia esculenta*) Fermented with *Lactobacillus plantarum*. Chief of

Advisory Committee: Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, Member of the Advisory Committee Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes.

Taro is one of the plant's carbohydrate and nutrient providers are widely used as raw materials for making food. But taro tuber also contains the antinutritional compound in the form of oxalate. These compounds cause itching when consumed and the formation of precipitated calcium oxalate crystals in the kidney. This study aims to reduce antinutritional in taro tuber by fermentation method using *Lactobacillus plantarum*. In this research, there is 2 stages namely: (1) preparation process of taro tuber fermentation using *Lactobacillus plantarum*, (2) fermentation under optimum conditions and yield analysis. Determination of optimum conditions of fermentation is based on the lowest content of oxalate in taro tuber. The optimum conditions of the fermentation process include pH, temperature, and incubation time. Variation of pH used is 4; 4.5; 5; 5.5; 6, and temperature variations are (30, 35, 40, 45, 50) °C, and variation of incubation time is (6, 12, 24, 36, 48) hours. The results showed that the optimum condition of taro tuber fermentation was at pH 5 with temperature 35 °C and for 48 hours. The results showed that the optimum condition of taro tuber fermentation was at pH 5 with temperature 35 °C and for 48 hours. The pH, temperature, and incubation time had a significant effect on the decrease of oxalate content in taro tuber after fermentation ($p < 0,05$). The protein profile analysis showed changes in protein profiles before fermentation and after fermentation. After fermented, there are some missing protein bands. This missing protein is thought to be a protein that forms an allergenic complex with oxalates that often cause itching when taken. Character on taro flour after fermentation increased in starch content by 0,96%, amylose content of 0,43%, amylopectin content of 0,52%, and protein content of 0,99%.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala limpahan rahmat, rejeki, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan dan penelitian tugas akhir berupa tesis dengan judul “Kadar Antinutrisi, Profil Protein, Dan Karakteristik Tepung Talas (*Colocasia Esculenta*) yang Difermentasi dengan Bakteri Menggunakan *Lactobacillus Plantarum*” dengan baik. Tesis ini digunakan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelas Magister dalam bidang ilmu kimia di Universitas Brawijaya Malang.

Dalam proses penulisan dan penyelesaian tesis ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, dukungan, arahan, serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS dan Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes selaku pembimbing atas kesediaan waktu, arahan, bimbingan, saran, dan motivasi yang selalu diberikan kepada penulis.
2. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS dan Anna Safitri, S.Si, M.Sc, Ph.D yang telah bersedia memberikan saran dan masukan dalam penulisan tesis ini.
3. Siti Maryah Ulfa, S.Si, M.Sc, Dr.Sc, selaku Ketua Program Studi Pascasarjana Kimia UB atas segala motivasi dan semangat yang diberikan kepada penulis.
4. Bapak Maryono selaku PLP Laboratorium Biokimia atas segala bantuan dan dukungan yang diberikan selama penulis melakukan penelitian.
5. Seluruh civitas akademik jurusan kimia yang telah banyak memberikan ilmu selama penulis menempuh masa studi di Universitas Brawijaya Malang.

6. Bapak Andreas Bheda dan Ema Matilda Wea selaku orang tua terbaik atas segala dukungan dan doa tiada henti untuk semua usaha penulis.

7. Teman-teman Pascasarjana Kimia yang telah banyak berbagi bantuan, ilmu, pengalaman, dan banyak cerita selama menjalani perkuliahan.

8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung demi penyelesaian tesis ini.

Kritik dan saran yang membangun senantiasa diharapkan demi perbaikan tesis ini. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan pengetahuan baru kepada pembaca tentang fermentasi bahan pangan.

Malang, 25 Juli 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS	v
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Masalah	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Talas	5
2.2 Fermentasi	8
2.3 <i>Lactobacillus plantarum</i>	9
2.4 Sumber Nutrisi Mikroorganisme	10
2.5 Elektroforesis	11
2.6 Amilosa dan Amilopektin	13
BAB III KERANGKA PENELITIAN	15
3.1 Kerangka Konsep	15
3.2 Kerangka Operasional	16
3.3 Hipotesis	17
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	18

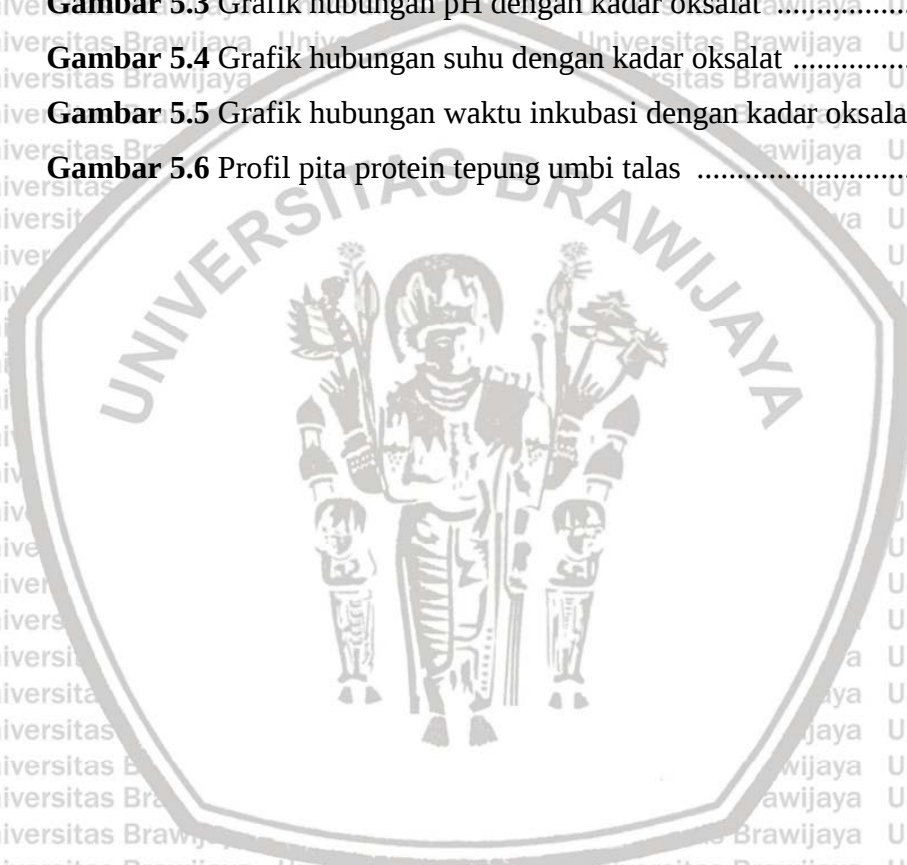
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	18
4.2 Bahan dan Alat Penelitian	18
4.3 Prosedur Penelitian	19
4.3.1 Preparasi Substrat Umbi Talas	19
4.3.2 Preparasi Kultur Starter	19
a) Pembuatan media padat agar miring.....	19
b) Peremajaan biakan murni <i>Lactobacillus plantarum</i>	19
c) Pembuatan media cair	20
d) Pembuatan kurva pertumbuhan <i>Lactobacillus plantarum</i>	20
e) Pembuatan inokulum	20
4.3.3 Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi	21
a) Penentuan pH optimum.....	21
b) Penentuan suhu optimum.....	21
c) Penentuan waktu inkubasi optimum	22
4.3.4 Penentuan kadar oksalat	22
4.3.5 Fermentasi umbi talas dan Karakterisasi Tepung	23
a) Analisis kadar protein	23
b) Analisis kadar air	23
c) Analisis kadar pati	24
d) Analisis kadar amilosa	25
e) Analisis kadar amilopektin	26
4.3.6 Karakterisasi profil protein tepung talas dengan metode elektroforesis SDS PAGE	26
4.4 Analisis Data.....	26
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	28
5.1 Preparasi Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i>	28
5.2 Kondisi Optimum Fermentasi	30
5.2.1 Pengaruh Variasi pH pada Proses Fermentasi	30
5.2.2 Pengaruh Variasi Suhu pada Proses Fermentasi.....	32
5.2.3 Pengaruh Variasi Waktu Inkubasi pada Proses Fermentasi.....	33
5.3 Penentuan Profil Protein Tepung Umbi Talas	34
5.4 Penentuan Kadar Protein, Kadar Pati, Amilosa, Amilopektin,	

dan Kadar Air Tepung Umbi Talas Non Fermentasi dan Fermentasi.....	37
BAB VI PENUTUP	44
6.1 Kesimpulan	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman talas dan umbinya	5
Gambar 2.2 Rumus struktur asam oksalat dan kalsium oksalat	6
Gambar 2.3 Prinsip kerja SDS PAGE	12
Gambar 2.4 Struktur amilosa	13
Gambar 2.5 Struktur amilopektin	14
Gambar 5.1 Peremajaan bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i> dan inokulum	28
Gambar 5.2 Kurva pertumbuhan bakteri <i>Lac. palntarum</i> dalam media MRSB	30
Gambar 5.3 Grafik hubungan pH dengan kadar oksalat	31
Gambar 5.4 Grafik hubungan suhu dengan kadar oksalat	32
Gambar 5.5 Grafik hubungan waktu inkubasi dengan kadar oksalat	33
Gambar 5.6 Profil pita protein tepung umbi talas	36



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi yang ada dalam talas	5
Tabel 2.2 Biounsur utama sebagai zat gizi mikroorganisme.....	11
Tabel 5.1 Perbedaan berat molekul (BM) profil protein	36
Tabel 5.2 Karakteristik tepung talas yang difermentasi dan tidak difermentasi.....	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian	46
Lampiran 2. Diagram Alir penelitian.....	47
2.1 Peremajaan Isolat Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i>	47
2.2 Penentuan Kurva Pertumbuhan <i>Lactobacillus plantarum</i>	47
2.3 Uji Oksalat dalam Tepung	48
2.4 Penentuan Profil Protein Tepung Talas	49
a) Preparasi sampel	49
b) Elektroforesi SDS PAGE	49
c) Pewarnaan Gel	50
2.5 Uji Kadar Protein	50
2.6 Uji Kadar Air	50
2.7 Uji Kadar Pati	51
2.8 Uji Kadar Amilosa	52
2.9 Uji Kadar Amilopektin	52
Lampiran 3. Preparasi Larutan	53
3.1 Pepton 0,1%	53
3.2 Pembuatan media padat agar miring	53
3.3 Pembuatan media cair	53
3.4 Pembuatan Larutan NaH_2PO_4 (natrium dihidrogen fosfat/mononatrium fosfat) 0,2 M.....	53
3.5 Pembuatan Larutan Na_2HPO_4 (disodium fosfat/sodium hidrogen fosfat) 0,2 M	53
3.6 Pembuatan buffer fosfat dengan beberapa pH (4; 4,5; 5; 5,5; 6)	53
3.7 Pembuatan larutan HCl 6 M	54
3.8 Pembuatan reagen tungstophosphoric	55
3.9 Pembuatan larutan NaOH 30% dan 45%.....	55
3.10 Pembuatan reagen Nelson	55
3.11 Pembuatan Separating Gel 12,5%	55
3.12 Pembuatan Stacking Gel 3%	55
Lampiran 4. Perhitungan Parameter	56
4.1 Kurva Pertumbuhan <i>Lactobacillus plantarum</i>	56

4.2 Uji Pengaruh pH terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung.....	56
4.2.1 Perhitungan Kadar Oksalat dalam Tepung	56
4.2.2 Tabel Kadar Oksalat dalam tepung pada Variasi pH	57
4.2.3 Uji Statistik Pengaruh pH terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung Talas	58
4.2.4 Tabel Kadar Oksalat dalam Filtrat pada Variasi pH.....	58
4.2.5 Uji Statistik Pengaruh pH terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung Talas	59
4.3 Uji Pengaruh Suhu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung	59
4.3.1 Tabel Kadar Oksalat dalam Tepung pada Variasi Suhu	59
4.3.2 Uji Statistik Pengaruh Suhu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung Talas	60
4.3.3 Tabel Kadar Oksalat dalam Filtrat pada Variasi Suhu	60
4.3.4 Uji Statistik Pengaruh Suhu terhadap Kadar Oksalat dalam Filtrat	61
4.4 Uji Pengaruh Waktu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung.....	61
4.4.1 Tabel Kadar Oksalat dalam tepung pada Variasi Waktu.....	61
4.4.2 Uji Statistik Pengaruh Waktu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung Talas.....	62
4.4.3 Tabel Kadar Oksalat dalam Filtrat pada Variasi Waktu	62
4.4.4 Uji Statistik Pengaruh Waktu terhadap Kadar Oksalat dalam Filtrat	63
4.5 Penentuan Profil Protein	64
4.6 Perhitungan Kadar Protein.....	65
4.7 Perhitungan Kadar Air	66
4.8 Perhitungan Kadar Pati	67
4.9 Perhitungan Kadar Amilosa	69
4.10 Perhitungan Kadar Amilopektin	71

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan pangan yang semakin meningkat membuat ketergantungan terhadap bahan pangan tertentu pun semakin dirasakan, salah satunya adalah ketergantungan pada tepung terigu. Indonesia dikenal sebagai negara yang memiliki keanekaragaman yang tinggi. Terdapat banyak potensi tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Hal ini dapat dimanfaatkan sebagai salah satu solusi untuk mengurangi ketergantungan pada bahan pangan tertentu dengan melakukan program diversifikasi pangan. Tanaman yang dapat dijadikan sebagai pengganti tepung terigu adalah yang mempunyai kandungan karbohidrat tinggi dan karakteristiknya mirip dengan tepung tersebut, seperti umbi talas. Talas (*Colocasia esculenta*) merupakan tanaman umbi-umbian yang tumbuh cukup banyak di daerah tropis dan subtropis (Cahyo *et al*, 2014). Umbi talas mengandung pati 70g-80 g/100 g bahan dengan ukuran granula yang sangat kecil dengan diameter antara 1,4 μ m dan 5 μ m (Arici, 2016). Umbi talas kaya akan fosfor, zat besi, vitamin C, tiamin, riboflavin, dan protein seperti inhibitor tripsin, albumin, dan lektin (Amon, 2011; Oke, 2011; Kaushal *et al.*, 2012; Pereira, 2015). Selain mengandung komponen nutrisi ini talas juga mengandung zat antinutrisi yakni oksalat yang menyebabkan rasa gatal ketika bersentuhan dengan kulit (Cahyo *et al*, 2014).

Talas dapat diolah menjadi tepung. Konversi umbi talas menjadi tepung untuk produksi makanan olahan mendorong berkembangnya industri berbahan dasar tepung talas sehingga mampu meningkatkan nilai jual talas. Tepung talas sangat

mudah untuk dicerna sehingga cocok dimanfaatkan sebagai makanan pengganti untuk pasien yang mengalami gangguan pencernaan dan juga sebagai makanan bayi (Kusnadi, 2005). Tetapi salah satu kandungan umbi talas yang membahayakan adalah oksalat. Oksalat yang bersifat tidak larut dapat menyebabkan iritasi, pembengkakan pada bibir, mulut, dan kerongkongan bila dimakan (Bradbury, 1997). Sehingga dapat dilakukan upaya untuk menurunkan kadar oksalat yaitu dengan perebusan atau pengukusan sampai kulitnya mengelupas dan perebusan dengan larutan NaCl 2% selama 30 menit. Namun dengan metode ini dapat merusak kandungan nutrisi yang terkandung dalam talas tersebut, sehingga perlu dilakukan metode yang lebih baik seperti fermentasi untuk menurunkan kadar oksalat dalam talas. Fermentasi dilakukan dengan berbagai mikroorganisme seperti bakteri, khamir, jamur. Penelitian terdahulu membuktikan bahwa bahwa fermentasi dengan bakteri mampu menurunkan kadar sianida pada singkong karena kemampuan mikroorganisme mendegradasi glikosida sianogen menjadi hidrogen sianida yang kemudian diubah menjadi formamida sehingga menjadi sumber karbon dan nitrogen (Tefera, 2014).

Saat ini telah banyak dilakukan proses fermentasi untuk meningkatkan kualitas karakteristik tepung dari umbi-umbian. Fermentasi bertujuan meningkatkan kualitas bahan pangan dan menurunkan atau menghilangkan zat antinutrisi yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Fermentasi umbi-umbian dengan bakteri mampu memperbaiki cita rasa dan nilai gizi pada tepung yang dihasilkan. Salah satu bakteri yang dapat digunakan adalah *Lactobacillus plantarum*. Selama proses fermentasi, isolat bakteri akan menghasilkan peptidoglikan pada dinding selnya yang tersusun atas komponen glikoprotein dan

lipoprotein yang menyebabkan peningkatan kadar protein. Fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, suhu, waktu inkubasi yang mana aktivitas enzim dan fase pertumbuhan mikroba maksimum dihasilkan pada pH, suhu, dan waktu optimum. Adanya aktivitas fermentasi ini mampu mempengaruhi perubahan profil protein yang terkandung dalam bahan pangan. Perubahan profil protein dapat terjadi karena adanya aktivitas bakteri selama berlangsungnya fermentasi. Selama proses fermentasi berlangsung bakteri akan menggunakan nutrisi yang ada dalam pangan sebagai sumber energi dan merombak senyawa-senyawa yang ada di dalamnya dengan mengubah komposisi awal bahan pangan tersebut. *Lactobacillus plantarum* mampu meningkatkan kadar protein bonggol pisang ketika difermentasi selama 48 jam sebesar 9,49 mg/mL (Trinanda, 2015). Tandrianto (2014) dalam penelitiannya juga membuktikan bahwa fermentasi pada singkong menggunakan *Lactobacillus plantarum* mampu meningkatkan kadar protein pada tepung singkong terfermentasi yang dikenal dengan nama tepung mokaf. Peningkatan kadar protein sebesar 0,89% juga terjadi pada tepung taka (*Tacca leontopetaloides*) yang dimodifikasi dengan bakteri *Lactobacillus plantarum* (Setiarto, 2016).

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya dan melihat pentingnya fermentasi pada umbi talas maka pada penelitian ini akan dilakukan fermentasi pada umbi talas dengan bakteri *Lactobacillus plantarum* untuk melihat perubahan profil protein dan penurunan kadar oksalat pada umbi talas serta karakteristik tepung yang dihasilkan. Dalam penelitian ini akan dilakukan optimasi suhu, pH, dan waktu inkubasi selama proses fermentasi untuk mendapatkan tepung talas dengan kualitas terbaik. Perubahan profil protein akan ditentukan berdasarkan berat molekul protein yang diperoleh dari elektroforesis SDS PAGE.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah kondisi optimum fermentasi umbi talas dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum*?
2. Apakah terjadi penurunan kadar oksalat pada umbi talas yang difermentasi dengan bakteri *Lactobacillus plantarum*?
3. Bagaimana profil protein yang dihasilkan oleh proses fermentasi umbi talas yang memanfaatkan bakteri *Lactobacillus plantarum*?
4. Bagaimana karakter tepung talas setelah difermentasi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kondisi optimum fermentasi umbi talas.
2. Untuk mengetahui perubahan kadar oksalat pada umbi talas setelah difermentasi.
3. Untuk mengetahui profil protein yang dihasilkan dari proses fermentasi umbi talas.
4. Untuk mengetahui karakter tepung talas sesudah difermentasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan dengan penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai kajian ilmu untuk meningkatkan kualitas umbi talas sebagai salah satu bahan pangan bagi manusia dengan menyediakan tepung umbi talas sebagai pengganti tepung terigu.

1.5 Batasan Masalah

1. Kondisi optimum fermentasi umbi talas menggunakan *Lactobacillus plantarum* yang ditentukan meliputi pH, suhu, dan waktu inkubasi.
2. Sampel umbi talas yang digunakan diperoleh dari Gunung Kawi Malang.
3. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Lactobacillus plantarum*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Talas

Talas adalah tanaman jenis umbi-umbian yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Pada kenyataannya, di antara tujuh (7) spesies *Colocasia* yang berasal dari Asia talas (*Colocasia esculenta*) adalah yang paling berkembang di Indonesia dan beberapa negara lainnya di Asia Tenggara. Di Indonesia talas digunakan sebagai bahan makanan, makanan ringan, dan bahan baku pakan ternak.

Talas juga merupakan tanaman penting di beberapa negara luar seperti Hawaii, Jepang, Mesir, Ghana, dan Nigeria (Cahyo et al, 2014).



Gambar 2. 1 Tanaman talas dan umbinya

Tabel 2.1 Komposisi yang ada dalam talas (Alcantara *et al.*, 2013)

Komponen	Umbi Talas	Tepung Talas
Kadar air (%)	6,54	6,21
Kadar abu (%)	2,44	2,78
Serat (%)	3,01	3,10
Protein (%)	7,79	8,07
Lemak (%)	0,65	0,45
Karbohidrat (%)	86,11	85,60

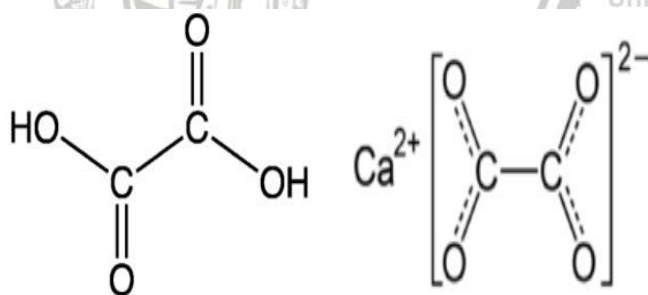
Umbi talas juga mengandung tiamin, riboflavin, besi, fosfor, zinc, vitamin B6, vitamin C, niasin, tembaga, dan mangan. Sebagai penyedia nutrisi, umbi talas merupakan sumber dari karbohidrat dan kalium yang baik. Umbi talas dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan tradisional dan tepungnya dapat diolah sebagai obat tradisional dan produk fermentasi berupa pasta kental. Kandungan

karbohidrat pada talas yang cukup tinggi serta adanya nutrisi lainnya kini membuat talas lebih banyak dibudidayakan sebagai salah satu makanan untuk diversifikasi pangan. Dalam umbi talas terkandung karbohidrat dan protein, mineral kalsium dan fosfor yang cukup tinggi yang penting untuk pertumbuhan tulang dan gigi. Dalam tepung talas terkandung serat yang berguna membantu pencernaan dalam tubuh.

Pati dari talas memiliki ukuran granula yang cukup kecil sehingga mudah dicerna dan mengandung amilosa sekitar 20-25% (Rukmana, 1998).

Namun, dalam talas juga terkandung senyawa antinutrisi berupa oksalat.

Dalam cairan sel tanaman senyawa oksalat terbentuk sebagai asam oksalat dan garam kalsium oksalat yang pada awalnya dibutuhkan tanaman sebagai pengikat ion kalsium. Akumulasi kalsium oksalat pun terjadi dalam vakuola tanaman karena proses pengangkutan. Asam oksalat adalah asam organik dikarboksilat yang paling sederhana dengan rumus molekul $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, dan rumus molekul dari kalsium oksalat adalah CaC_2O_4 . Asam oksalat larut dalam air sedangkan kalsium oksalat larut dalam asam kuat.



Gambar 2.2 Rumus struktur asam oksalat dan kalsium oksalat

Talas mengandung senyawa kristal kalsium oksalat. Apabila terjadi kontak antara talas dengan kulit maka akan menimbulkan rasa gatal. Hal ini dikarenakan kristal oksalat yang terbebaskan dari tanaman masuk ke dalam kulit saat kontak langsung. Bagian yang mengganggu ini karena adanya iritan protease yang ada

dalam jaringan. Protein iritan yang terletak pada ujung kristal kalsium oksalat dapat menyebabkan rasa gatal ketika talas dikonsumsi (Bradburry, 1988; Oscarsson, 2006; Amalia, 2013).

Efek paling kronis jika mengonsumsi talas yakni terjadinya endapan kristal kalsium oksalat dalam ginjal dan membentuk batu ginjal. Tetapi pada umbi talas kalsium oksalat yang terkandung masih di bawah titik aman yaitu 1,83 mg dalam 100 gram (Cahyo *et al.* 2014). Kalsium oksalat dapat dihilangkan secara fisik yakni dengan cara direbus. Secara kimiawi penghilangan kalsium oksalat dapat menggunakan natrium dioksida. Garam mampu menurunkan kandungan oksalat dalam talas disebabkan penarikan sel karena perbedaan potensial sehingga efek osmosis pun sama besar.

Adapun metode lain adalah dengan cara pencucian sampai bersih dengan perbandingan umbi dan air 1:4 diikuti dengan perendaman dengan NaCl 1% selama 20 menit dan dicuci kembali dengan air untuk menghilangkan zat pengotor. Cara lain untuk menurunkan kandungan asam oksalat dalam talas adalah dengan fermentasi. Penurunan pH selama proses fermentasi menyebabkan bentuk oksalat berubah dari oksalat tidak larut dalam air menjadi oksalat larut (Oke, 2011). pH selama proses pemasakan memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap jumlah oksalat terlarut yang akan berikatan dengan kation mineral bebas. pH yang kurang dari 6 mampu menurunkan ion oksalat divalent terdeprotonasi ($C_2O_4^{2-}$) sehingga dapat mengurangi potensi berikatan dengan mineral kation (Ca^{2+}) untuk membentuk oksalat tidak larut. Hal ini menyebabkan jumlah oksalat terlarut meningkat sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh bakteri anaerobik sehingga kadar oksalat akan menurun (Simpson *et al.*, 2009).

Penggunaan metode fermentasi untuk menghilangkan kandungan antinutrisi pada bahan pangan tertentu telah banyak dilakukan, salah satunya adalah fermentasi pada singkong untuk menghilangkan hidrogen sianida (HCN). Selama proses fermentasi mikroorganisme mampu menghambat aktivitas linamarase dan kemudian dapat mendegradasi glikosida sianogen. Proses degradasi terjadi karena mikroorganisme sianofilik yang mempengaruhi enzim linamarase dan lyase hidroxynitril yang mengkatalisis degradasi glikosida sianogen dan kemudian diubah menjadi fomamida (CH_3NO) yang digunakan sebagai sumber nitrogen dan karbon (Tefera, 2014). Kandungan protein antinutrisi dan alergen seperti tripsin inhibitor pada tepung kedelai pun dapat dihilangkan dengan bantuan bakteri selama proses fermentasi berlangsung sehingga meningkatkan kualitas tepung kedelai yang dihasilkan (Seo, 2016).

2.2 Fermentasi

Fermentasi didefinisikan sebagai proses disimilasi senyawa-senyawa organik karena aktivitas mikroorganisme di mana terjadi reaksi kimia pembebasan energi melalui perombakan nutrien (Smith, 1990). Proses fermentasi menggunakan aktivitas suatu mikroba tertentu atau campuran beberapa spesies seperti khamir, kapang, dan bakteri di mana terjadi aktivitas katabolik atau memecah komponen kompleks menjadi zat-zat yang lebih sederhana (Hidayat, 2006).

Beberapa faktor yang mampu mempengaruhi proses fermentasi adalah pH, suhu, waktu fermentasi, substrat dan mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi. Pada pH optimum mikroba akan menghasilkan enzim yang dapat mempercepat reaksi selama proses fermentasi berlangsung maka pH perlu dikontrol baik awal maupun selama proses berlangsung sehingga diperoleh pH optimum

untuk pertumbuhan mikroba dan hasil yang maksimal. Aktivitas maksimal dari enzim adalah pada pH 5 sampai 6. pH yang terlalu tinggi atau rendah akan mengakibatkan terjadinya beberapa perubahan seperti denaturasi protein atau kerusakan protein. Pengaruh waktu dalam hidup mikroba terbagi dalam 4 fase yakni adaptasi, pertumbuhan logaritmik, stasioner, dan kematian. Jumlah sel bakteri pada tiap fase berbeda tergantung pada fase pertumbuhannya. Karakteristik bahan pangan dari proses fermentasi ditentukan oleh mutu dan karakteristik asal bahan tersebut. Segala bentuk perubahan yang terjadi merupakan hasil dari fermentasi mikroorganisme. Suhu memiliki pengaruh selama terjadinya proses fermentasi. Selama melakukan aktivitas mikroba membebaskan panas. Suhu perlu dikontrol karena setiap mikroba mempunyai toleransi suhu yang berbeda-beda. Suhu yang paling baik adalah 50°C, suhu yang lebih atau kurang dari 50°C mengakibatkan keaktifan enzim berkurang karena energi kinetik molekul substrat maupun enzim menjadi rendah sehingga kecepatan reaksi menurun. Selain ketiga faktor ini, jenis mikroba yang digunakan juga merupakan salah satu faktor yang berpengaruh.

2.3 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum termasuk famili *Lactobacillaceae* dan genus *Lactobacillus* yang bersifat gram positif dan tidak bergerak, serta mampu mereduksi asam laktat. *Lactobacillus plantarum* memproduksi asam dengan cepat dan memiliki pH optimum 5,3-5,6 (Buckle, 1987).

Lactobacillus plantarum dapat tumbuh pada suhu 15 sampai 37°C dan pH 3,0 sampai 4,6. Koloni bakteri ini berwarna putih susu hingga abu-abu dan dapat dimanfaatkan sebagai starter. Pada keadaan asam, bakteri mampu menghambat munculnya bakteri patogen dan pembusuk (Delgado, 2001). *Lactobacillus*

plantarum merupakan penghasil hidrogen peroksida. *Lactobacillus plantarum* mulai menghasilkan antimikroba pada saat berumur 14 jam inkubasi dengan diameter zona hambat sebesar 6,42 mm dan mencapai puncaknya pada saat kultur berumur 24 jam. *Lactobacillus plantarum* dapat tumbuh dengan waktu inkubasi selama 48 jam (Zubaidah, 2010). Fermentasi dengan bakteri jenis ini mampu menghasilkan senyawa tertentu yang mampu meningkatkan kualitas makanan dan minuman, bau dan rasa yang membangkitkan selera serta memperbaiki tampilan makanan (Buckle, 1987; Robinson, 2000).

2.4 Sumber Nutrisi Mikroorganisme

Jika mikroorganisme mendapat pasokan nutrisi yang cukup yang diperoleh dari lingkungan sel mikrobial fermentasi dapat berlangsung dengan baik. Apabila sel mikrobial tumbuh dalam pangan maka nutrisi dipasok dari bahan pangan tersebut. Karbohidrat, protein, lipid, mineral, dan vitamin adalah komponen yang dapat dimanfaatkan oleh mikrobial sebagai sumber nutrisi. Hal ini dapat terjadi karena mikroorganisme mampu memproduksi enzim ekstraseluler spesifik atau koenzim yang akan menghidrolisis molekul kompleks menjadi molekul bentuk yang sederhana di luar sel sebelum ditranspor ke dalam sel (Sopandi, 2014). Selain komponen makronutrien yang mengandung karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen mikroorganisme juga membutuhkan mesonutrien seperti S, P, Mg, Ca, dan Mn dan juga mikronutrien seperti Fe, Cu, dan Zn (Hidayat, 2006).

Pertumbuhan bakteri dalam pangan terjadi setelah nutrisi pangan dimetabolisme. Metabolisme komponen pangan menghasilkan energi dan kelompok komponen aktif. Komponen paling penting pada metabolisme mikrobial dalam pangan adalah karbohidrat, protein, dan lipid. Karbohidrat akan

dimetabolisme oleh mikroorganisme dan dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi dan selanjutnya akan memetabolisme protein untuk pertumbuhan setelah karbohidrat rendah atau tidak lagi tersedia. Protein dan peptida dengan ukuran besar dalam bahan pangan akan dihidrolisis menjadi asam amino dan peptida yang berukuran kecil oleh enzim protease (Sopandi, 2014).

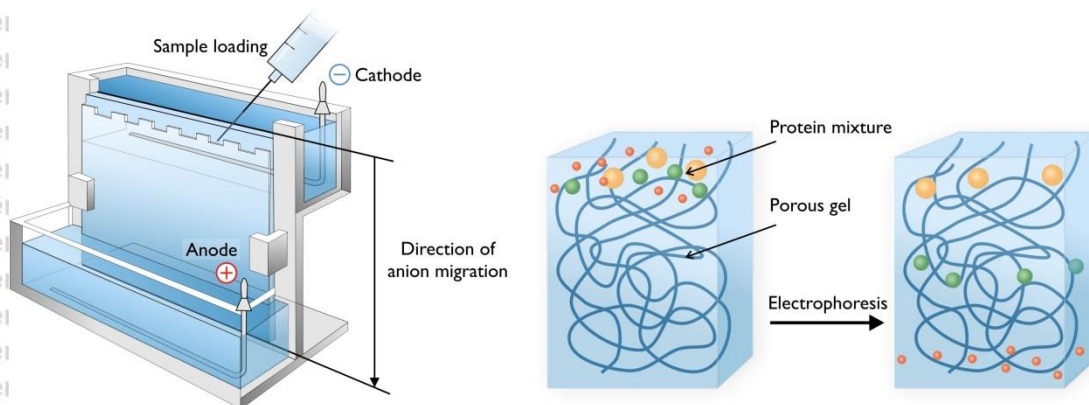
Tabel 2.2 Biounsur utama sebagai zat gizi mikroorganisme

Unsur	Sumber	Fungsi dalam metabolisme
C	senyawa organik, CO ₂ , O ₂ , H ₂ O	penyusun utama sel
N	NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ , N ₂ , senyawa organik	penyusun utama sel
O	H ₂ , H ₂ O, senyawa organik	penyusun utama sel
H	H ₂ , H ₂ O, senyawa organik	penyusun utama sel
S	SO ₄ ²⁻ , HS ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , senyawa organik	penyusun sistem, metionin, thiamin pirofosfat, koenzim A, biotin, & asam α-lipoic
P	HPO ₄ ²⁻	penyusun asam nukleat, fosfolipid, dan nukleotida.
Ca	Ca ²⁺	kofaktor beberapa enzim terdapat pada koenzim (amilase dan protease), co-dipikolonat merupakan komponen penting pada endospora.
K	K ⁺	kation anorganik di dalam sel, kofaktor beberapa enzim.
Mg	Mg ²⁺	kofaktor beberapa enzim, misalnya enzim kinase terdapat pada dinding sel, membran, dan ester fosfat.
Fe	Fe ²⁺ , Fe ³⁺	terdapat pada sitokrom, feredoksin, dan Fe-sulfur protein, kofaktor enzim, (beberapa enzim dehidratase).

2.5 Elektroforesis

Elektroforesis dapat dimanfaatkan untuk menentukan berat molekul (Yuwono, 2005). Salah satu jenis elektroforesis yang saat ini digunakan adalah SDS PAGE. Tujuan dari pemisahan protein dengan metode SDS-PAGE ini adalah untuk memisahkan protein dalam sampel berdasarkan berat molekul. Prinsip dasar SDS-

PAGE adalah denaturasi protein oleh sodium dodesil sulfat yang dilanjutkan dengan pemisahan molekul berdasarkan berat molekulnya. Elektroforesis dengan metode SDS menggunakan gel yakni poliakrilamid (Janson, 1998).



Gambar 2.4 Prinsip kerja SDS-PAGE

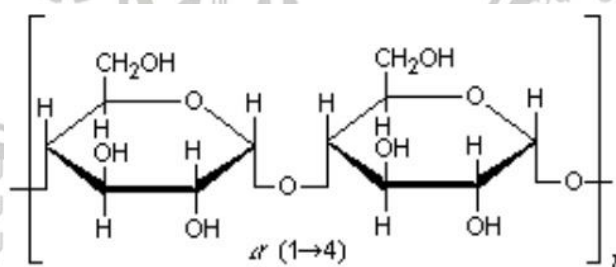
Poliakrilamid adalah polimer dari monomer akrilamid. Poliakrilamid adalah media yang tepat untuk memisahkan protein berdasarkan ukuran karena ukuran pori-pori kecil yang memungkinkan untuk memperlambat gerakan molekul. Pembentukan gel poliakrilamid adalah dengan terjadinya ikatan silang antara rantai poliakrilamid. Rantai ini terbentuk dari polymerisasi monomer akrilamid $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ dan N,N'-metilen-bis-akrilamida menjadi rantai poliakrilamid yang panjang. Polymerisasi ini dikatalis oleh amonium persulfat (APS). Poliakrilamid menguntungkan karena ukuran pori dan tingkat penyaringan molekulnya dapat diubah dengan mengubah konsentrasi akrilamid dan jumlah ikatan silangnya. Ukuran pori dapat divariasikan dengan mengubah jumlah akrilamid untuk membuat gel dengan konsentrasi 10-15%. Agar pita yang terbentuk dapat teramati maka gel perlu diwarnai dengan pewarnaan khusus yaitu dengan menggunakan *Commassie Brilliant Blue* yang berfungsi mengikat protein secara spesifik dengan ikatan kovalen dan dapat juga menggunakan *Silver Salt Staining* yang memiliki sifat lebih

sensitif dan akurat namun membutuhkan proses yang lebih lama (Wilson dan Walker, 2000).

2.6 Amilosa dan Amilopektin

Amilosa dan amilopektin merupakan komponen utama pati yang tersusun oleh beberapa unit glukosa yang saling berikatan. Kedua fraksi ini dapat dipisahkan dengan air panas, fraksi terlarut disebut sebagai amilosa dan yang tidak larut disebut sebagai amilopektin. Amilosa merupakan polisakarida, polimer yang tersusun dari glukosa sebagai monomernya yang terhubung dengan ikatan α -1,4-D-glukosa.

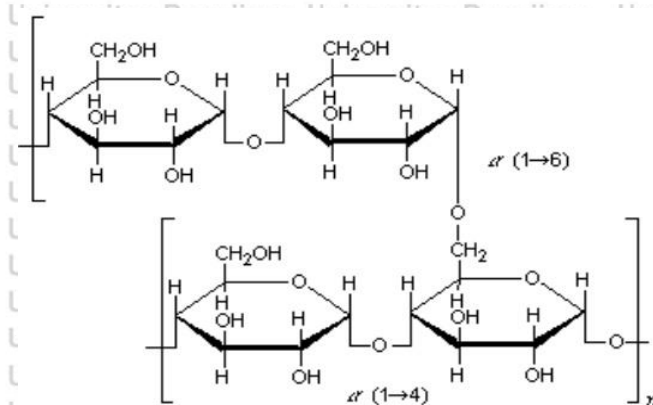
Amilosa mempunyai struktur lurus dengan derajat polimerisasi 100-400 dan memiliki berat molekul antara 4000 hingga 150.000 gr/mol. Apabila direaksikan dengan iodine amilosa akan memberikan warna biru tua. Amilosa memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen atau mengalami retrogradasi. Semakin banyak amilosa pada pati akan membatasi pengembangan granula dan mempertahankan integritas granula. Semakin tinggi kadar amilosa maka akan semakin kuat ikatan intramolekulnya. Dalam pengolahannya amilosa memberikan efek keras bagi tepung.



Gambar 2.5 Struktur amilosa

Sedangkan amilopektin memiliki struktur bercabang pada rantai utama. Amilopektin terdiri dari satuan glukosa yang tergabung melalui ikatan (1,4) D-glukosa dan pada titik percabangan dihubungkan dengan ikatan α -(1,6) D-glukosa.

Amilopektin memiliki berat molekul $\pm$ 500.000 hingga jutaan gr/mol.

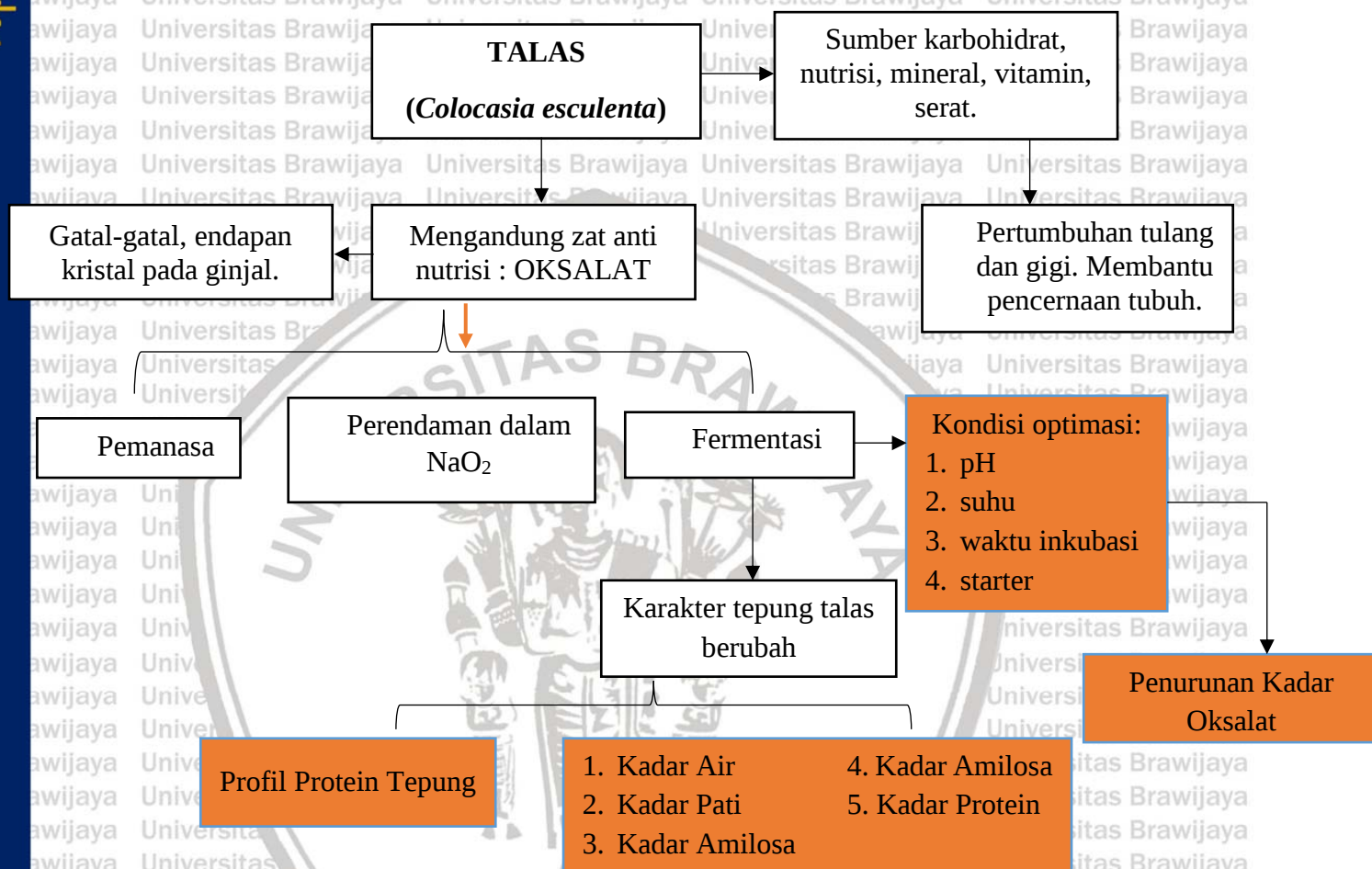


Gambar 2.6 Struktur amilopektin

Karakteristik seperti tekstur, viskositas, dan stabilitas dipengaruhi secara nyata oleh kadar dan berat molekul amilosa dan amilopektin. Perbandingan amilosa dan amilopektin dapat menentukan tekstur dan sifat pati (Winarno, 1981). Rasio keduanya mempengaruhi sifat pati yang mana dapat berpengaruh terhadap sifat kelarutan dan derajat gelatinisasi. Kandungan amilopektin yang lebih tinggi menyebabkan tekstur sumber pati lebih lunak dengan rasa yang enak. Sebaliknya apabila kandungan amilosa lebih tinggi maka akan menghasilkan produk yang keras dan pejal.

BAB III KERANGKA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



[] : variabel yang diamati

[] : cara penurunan

3.2 Kerangka Operasional

Tahap 1. Persiapan proses fermentasi umbi talas menggunakan *Lac. Plantarum*

Persiapan umbi talas meliputi pengelupasan kulit dan pencucian serta pemotongan untuk memperkecil ukuran dan memperluas bidang sentuh.

Persiapan kultur starter *Lactobacillus plantarum*, meliputi peremajaan, pembuatan kurva pertumbuhan, dan pembuatan inokulum.

Substrat dan bakteri yang siap untuk digunakan pada proses fermentasi.

Tahap 2. Fermentasi dan analisis hasil fermentasi

Penentuan kondisi optimum fermentasi umbi talas menggunakan *Lactobacillus plantarum* meliputi pH, suhu, dan waktu inkubasi.

Parameter penentu:
Kadar oksalat terendah pada umbi talas.

Karakterisasi tepung umbi talas yang telah difermentasi dibandingkan dengan yang tidak difermentasi.

Kadar air

Profil protein
Kadar Protein

Kadar pati, amilosa,
amilopektin.

3.3 Hipotesis

1. Variasi pH, suhu, dan waktu inkubasi pada fermentasi umbi talas dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* berpengaruh terhadap kadar oksalat yang dihasilkan.
2. Terjadi penurunan kadar oksalat pada umbi talas setelah difermentasi dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum*.
3. Profil protein dan karakter dari tepung umbi talas yang dihasilkan dari fermentasi dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* akan mengalami perubahan.



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang pada bulan April 2017 sampai Juni 2018.

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku pada penelitian ini berupa umbi talas segar yang diambil dari Gunung Kawi Malang dan isolat bakteri *Lactobacillus plantarum* koleksi Laboratorium Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Jogjakarta.

Bahan kimia yang digunakan antara lain MRSA, MRSB, NaH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$, HCl, *caprylic alcohol*, NH_4OH , H_2SO_4 , KMnO_4 , H_2SO_4 , $\text{Na}_2\text{SO}_4\text{-HgO}$, $\text{NaOH-Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, H_3BO_4 , reagen Nelson, reagen arsenomolybdat, alkohol, asam asetat, I_2 , larutan akrilamid atau poliakrilamid, buffer Tris HCl, amonium persulfat, SDS, TEMED, larutan pewarna (0,1% *commasie blue* dalam larutan methanol:air:asam asetat (5:5:2), larutan pembilas (methanol 30% dan asam asetat 10%). Penelitian ini memanfaatkan peralatan seperti seperangkat alat gelas, tabung reaksi, timbangan analitik, refrigerator, laminar flow, bunsen, jarum ose, kapas steril, kertas coklat, hot plate, autoclave, shaker, inkubator, magnetic stirrer, pH meter, kuvet, buret dan statif, oven, ayakan 100 mesh, penangas air, spektronik Genesis 20 dan seperangkat alat elektroforesis SDS PAGE.

4.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 2 tahapan yakni tahapan persiapan proses fermentasi umbi talas menggunakan *Lactobacillus plantarum* dan tahapan fermentasi dan analisis hasilnya.

4.3.1 Preparasi Substrat Umbi Talas

Umbi talas dikupas sampai bersih dan dicuci dengan air mengalir. Umbi diiris tipis dengan ketebalan 1-2 mm untuk kemudian digunakan dalam proses fermentasi.

4.3.2 Preparasi Kultur Starter

a) Pembuatan media padat agar miring

Media padat sebagai media peremajaan isolat dibuat dengan melarutkan MRSA (*Mann Rogosa Sharpe Agar*) dalam aquades dengan komposisinya seperti pada Lampiran 3.2. Larutan dipanaskan dan disterilkan dalam autoklaf kemudian didiamkan pada suhu ruang dengan posisi tabung dimiringkan sehingga diperoleh media agar miring.

b) Peremajaan biakan murni *Lactobacillus plantarum*

Kultur bakteri yang diperoleh dari koleksi UGM dalam bentuk padatan yang disimpan dalam bentuk liofilisasi. Padatan ditetesi dengan pepton 0,1%. Peremajaan biakan murni *Lactobacillus plantarum* dilakukan secara aseptis pada *laminar air flow*. Isolat *Lactobacillus plantarum* dipindahkan secara aseptis ke dalam media padat dan juga media cair dengan menggunakan jarum ose. Tabung media padat dan cair kemudian ditutup dengan kapas steril dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

c) Pembuatan media cair

Media cair dibuat dengan melarutkan MRSB (*Mann Rogosa Sharpe Broth*)

dalam aquades dengan komposisi seperti pada lampiran 3. Larutan dipanaskan dan disterilkan dalam autoklaf dan didinginkan pada suhu ruang.

d) Pembuatan kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Sub kultur bakteri hasil peremajaan dari media padat sebanyak 1 tabung (5

mata ose) dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL

dikocok dan disimpan 5 menit dan dituang ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 mL

media pertumbuhan MRSB, kemudian diinkubasi pada inkubator Heraeus dengan

suhu 37⁰ C selama 60 jam dan tiap 2 jam diambil 1 mL dan diencerkan sampai 10

mL. Kemudian dilakukan pengukuran densitas optik (OD) pertumbuhan sel pada

panjang gelombang 620 nm menggunakan Spektrometri Genesis 20 dan dibuat grafik

hubungan waktu inkubasi dengan densitas optik sehingga diperoleh kurva

pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*.

e) Pembuatan inokulum

Pembuatan inokulum dilakukan di dalam laminar *flow* dengan memindahkan

bakteri *Lactobacillus plantarum* dari media padat sebanyak 5 mata ose secara

aseptis ke dalam tabung reaksi berisi 10 mL dikocok perlahan dan disimpan selama

5 menit kemudian ditransfer ke erlenmeyer yang berisi 90 mL media cair steril.

Mulut erlenmeyer dipanaskan, ditutup dengan kapas, dilapisi kertas coklat, dan

diikat dengan karet. Setelah itu, campuran tersebut diinkubasi sampai jam ke-24

yakni pertengahan fase logaritma.

4.3.3 Penentuan Kondisi Optimum Fermentasi

Kondisi optimum yang mempengaruhi proses fermentasi meliputi keadaan pH, suhu, dan waktu inkubasi. Kondisi optimum fermentasi dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan kadar terendah oksalat di dalam tepung umbi talas yang dihasilkan.

a. Penentuan pH optimum

Umbi talas yang telah diiris kemudian ditimbang sebanyak 8 gram dan masing-masing dimasukkan ke dalam 15 buah erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan dengan 16 mL inokulum dan 8 mL larutan buffer fosfat dengan variasi pH 4; 4,5; 5; 5,5; dan 6. Erlenmeyer ditutup rapat dan diinkubasi selama 6 jam pada suhu 37°C. Setelah melewati proses inkubasi irisan umbi dipisahkan dari filtratnya dengan kertas saring dan dikeringkan pada suhu 40°C. Filtrat sisa fermentasi dan umbi yang sudah dikeringkan selanjutnya ditentukan kadar oksalatnya.

b. Penentuan suhu optimum

Umbi talas yang telah diiris kemudian ditimbang sebanyak 8 gram dan masing-masing dimasukkan ke dalam 15 buah erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan dengan 16 mL inokulum dan 8 mL larutan buffer fosfat pH 5. Erlenmeyer kemudian ditutup rapat dan diinkubasi selama 6 jam dengan variasi suhu 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, dan 50°C. Setelah melewati proses inkubasi irisan umbi dipisahkan dari filtratnya dan dikeringkan pada suhu 40°C. Filtrat sisa fermentasi dan umbi yang sudah dikeringkan selanjutnya ditentukan kadar oksalatnya.

c. Penentuan waktu inkubasi optimum

Umbi talas yang telah diiris kemudian ditimbang sebanyak 8 gram dan masing-masing dimasukkan ke dalam 15 buah erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan dengan 16 mL inokulum dan 8 mL larutan buffer fosfat pH 5. Erlenmeyer kemudian diinkubasi pada suhu 35 °C selama variasi waktu 6 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam. Setelah melewati proses inkubasi irisan umbi dipisahkan dari filtratnya dan dikeringkan pada suhu 40° C. Filtrat sisa fermentasi dan umbi yang sudah dikeringkan selanjutnya ditentukan kadar oksalatnya.

4.3.4 Penentuan kadar oksalat

Penentuan kadar oksalat dilakukan pada tepung talas yang telah difermentasi dan juga pada filtratnya (AOAC, 1984). Ditimbang 2 gram tepung talas, ditambahkan dengan 11 mL HCl 6 M, 58 mL air, dan 3 tetes *caprylic alcohol* kemudian diaduk dan dipanaskan selama 15 menit. Larutan didinginkan dan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan air sampai tanda batas dan didiamkan semalam. Larutan kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat diambil 25 mL, dipipet ke dalam erlenmeyer 50 mL dan ditambahkan dengan 5 mL reagen *tungstophosphoric*, didiamkan selama 8 jam kemudian disaring. 20 mL dari filtrat kemudian ditambahkan dengan NH_4OH sampai pHnya 4,5 dan diamkan selama semalam. Larutan disentrifus selama 15 menit untuk memadatkan endapannya dan dipisahkan supernatannya. Endapannya dibilas dengan 10 mL $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0,1 M kemudian disentrifus lagi dan dibuang supernatannya. Pencucian diulangi sampai 3 kali. Endapan kemudian dilarutkan dengan H_2SO_4 1 M dan dipanaskan dan dititrasi dengan KMnO_4 0,001 M sampai larutan menunjukkan warna merah muda yang stabil.

4.3.5 Fermentasi umbi talas dan Karakterisasi Tepung

Pada penentuan karakter tepung dilakukan uji proksimat dari tepung umbi talas yang sudah dilakukan fermentasi dibandingkan dengan tepung umbi talas yang tidak difermentasi sebagai kontrol. Umbi talas sebanyak 25 gram difermentasi pada kondisi optimum yakni pada pH 5 dan suhu 35 °C selama 48 jam. Umbi talas selanjutnya dikeringkan, dihaluskan, dan diayak untuk mendapatkan tepung dengan ukuran 100 mesh. Karakter tepung yang diuji meliputi analisis kadar protein, kadar air, kadar pati, kadar amilosa, dan kadar amilopektin.

a. Analisis kadar protein

Penentuan kadar protein ini dengan metode Kjedal. Tepung umbi talas hasil fermentasi ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu Kejdhal 500 mL lalu ditambahkan 10 mL H_2SO_4 pekat dan 1 gram tablet Kejdhal. Larutan kemudian didestruksi sampai jernih. Larutan dibiarkan sampai dingin dan ditambahkan dengan 100 mL air dan 50 mL larutan NaOH 30 % kemudian dikocok. Larutan dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan diletakkan di atas alat pemanas dan disambungkan dengan alat destilasi. Destilat yang diperoleh ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 25 mL larutan jenuh asam borat (H_3BO_4) dan beberapa indikator metil merah. Langkah terakhir adalah larutan yang diperoleh dititrasi dengan H_2SO_4 0,18758 N kemudian dihitung N total dan persentasi protein dalam sampel.

b. Analisis kadar air

Ditimbang 2 gram tepung kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3-5 jam. Tepung kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Dipanaskan lagi pada oven selama 30 menit kemudian didinginkan

dalam eksikator dan ditimbang (perlakuan ini diulangi sampai terjadi berat konstan). Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan.

c. Analisis kadar pati

➤ Pembuatan kurva standar (AOAC, 1970)

Dibuat larutan glukosa standar (10 mg/100 mL) dan diencerkan sebanyak 6 kali sehingga didapatkan larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/100 mL. Tiap larutan pada konsentrasi tersebut masing-masing ditempatkan pada tabung reaksi dengan 1 salah satu tabung berisis 1 mL air suling sebagai blangko. Ditambahkan dengan 1 ml reagensia Nelson dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin, ditambahkan dengan 1 mL reagen Arsenomolybdat lalu digojog dan ditambahkan dengan 7 mL aquades. Absorbansinya dihitung dengan spektrofotometer pada $\lambda = 540$ nm dan dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dan absorbansi.

➤ Penentuan kadar pati (AOAC, 1970)

5 gram tepung dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL dan ditambahkan dengan 50 mL aquades dan diaduk selama 1 jam. Larutan kemudian disaring dan dipisahkan antara residu dan filtrat. Residu yang ada dicuci 5 kali dengan 10 mL eter. Kemudian dicuci kembali dengan 150 mL alkohol 10%. Residu kemudian dipindahkan secara kuantitatif ke dalam erlenmeyer, dicuci dengan 200 mL aquades, dan ditambahkan dengan 20 mL HCl 25%. Larutan dipanaskan dalam penangas air yang mendidih dan didinginkan. Setelah dingin kemudian dinetralkan dengan larutan NaOH 45% dan diencerkan sampai 500 mL. Larutan kemudian dijernihkan dengan Pb asetat. Larutan jernih tersebut kemudian dipipet ke dalam

tabung reaksi sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson.

Larutan pada tabung reaksi kemudian dipanaskan pada penangas air yang mendidih selama 20 menit, dididnginkan, ditambahkan dengan 1 mL reagen arsenomolybdat dan 7 mL aquades kemudian digojog. Absorbansinya dilihat dengan spektrofotometer pada $\lambda = 540$ nm. Penentuan kadar pati dilakukan dengan menghubungkan nilai absobansi dengan kurva standar larutan glukosa.

d. Kadar Amilosa

➤ Pembuatan kurva standar

Standarisasi amilosa dilakukan untuk memperoleh kurva standar yang menunjukkan hubungan antara nilai penyerapan cahaya dengan konsentrasi amilosa. 40 mg amilosa standar dimasukkan ke dalam gelas kimia 50 mL dan ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1 N. Larutan kemudian dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 100°C selama 10 menit. Larutan kemudian dipipet ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan 1 mL asam asetat dan 2 mL I_2 2% dan diencerkan sampai 100 mL lalu diukur absorbansi dengan spektrofotometer $\lambda = 620$ nm.

➤ Penentuan kadar amilosa

Ditimbang 0,1 gram tepung kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambah 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1 N dan dibiarkan selama 23 jam atau dipanaskan dalam penangas air selama 10 menit. Didinginkan selama 1 jam dan diencerkan menjadi 100 mL. Dari larutan ini dipipet 5 mL untuk dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan kemudian ditambahkan dengan 60 mL air, 1 mL asam asetat 1 N, dan 2 mL I_2 2% dan diencerkan sampai volume 100 mL. Larutan

kemudian dikocok dan didiamkan selama 20 menit. Kemudian dihitung absorbansinya dengan spektrofotometer $\lambda = 620 \text{ nm}$.

e. Kadar amilopektin

Kadar amilopektin ditentukan dengan menghitung selisih antara kadar pati dengan kadar amilosa.

4.3.6 Karakterisasi profil protein tepung talas dengan metode elektroforesis SDS PAGE

Umbi talas dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Umbi yang sudah kering kemudian digerus dengan menggunakan mortar. 0,2 gram sampel dimasukkan ke dalam ependorf dan ditambahkan dengan 1 mL buffer fosfat 0,05 M pH 7,2. Kemudian diinkubasi pada suhu 4°C dan di-shaker selama 24 jam. Partikel padatnya dipisahkan dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 17.700 selama 20 menit. Sampel siap untuk dimasukkan dalam sumur-sumur gel.

Proses elektroforesis dilakukan pada konsentrasi *separating gel* 12,5% dan *stacking gel* 3% dengan arus konstan 20 mA selama kurang lebih 40-50 menit atau sampai *tracking dye* mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel. Gel hasil *running* direndam dalam 20 mL larutan staining sambil digoyang-goyang selama kurang lebih 15 menit dan dicuci dengan air beberapa kali. Setelah itu, gel direndam dalam 50 mL larutan *destaining* sambil digoyang dan diganti dengan larutan *destaining* beberapa kali sampai pita protein terlihat jelas. Gel kemudian di-scan dan dilanjutkan dengan menentukan harga R_f dan berat molekul dari tiap pita protein dengan membandingkannya pada protein marker.

4.4 Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang diperoleh dianalisis menggunakan software SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) 16.0. Analisis meliputi uji

homogenitas data untuk mengetahui distribusi data. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan pH, suhu, dan waktu inkubasi terhadap parameter kadar oksalat dilakukan dengan menggunakan ANOVA yang dilengkapi dengan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil pengujian dikatakan signifikan apabila $p < 0,01$. Untuk mengetahui perbedaan kadar pati, amilosa, amilopektin, kadar air, dan kadar oksalat sebelum dan setelah difermentasi digunakan uji T sampel berpasangan. Hasil dikatakan berbeda apabila nilai signifikansinya lebih kecil dari 0,05. Selanjutnya, profil protein dianalisis dengan menghitung nilai Rf dari masing-masing pita protein yang muncul.

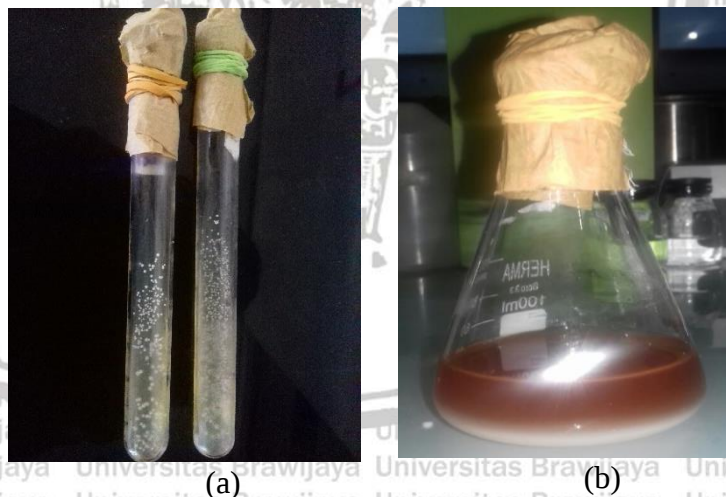


BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Preparasi Bakteri *Lactobacillus plantarum*

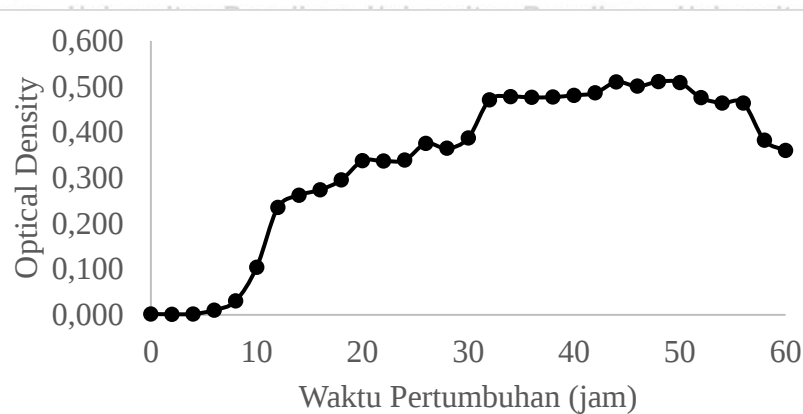
Preparasi bakteri *Lactobacillus plantarum* diawali dengan pembuatan media padat agar (*Mann Rogosa Sharpe Agar*) miring yang digunakan untuk peremajaan biakan murni *Lactobacillus plantarum* (Gambar 5.1 a). Media cair (*Mann Rogosa Sharpe Broth*) digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri agar dapat digunakan sebagai starter. Media cair yang sudah ditumbuhi bakteri disebut inokulum. Bakteri yang sudah tumbuh ditandai dengan ciri-ciri fisik yaitu di dasar media cair terdapat endapan putih dan apabila digojog akan terjadi perubahan warna dari merah bata menjadi coklat keruh (Gambar 5.1 b). Hal ini menunjukkan bahwa inokulum yang telah dipreparasi siap digunakan dalam proses fermentasi umbi talas.



Gambar 5.1 (a) Peremajaan bakteri *Lactobacillus plantarum* dan (b) Inokulum

Selanjutnya dibuat kurva baku pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* untuk melihat hubungan antara lama waktu pertumbuhan dan OD (*optical density*) pada suhu 37°C seperti yang dapat dilihat pada Gambar 5.2. Kurva pertumbuhan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 620 nm dengan

memplotkan waktu pertumbuhan dengan OD atau tingkat kekeruhan. Pertumbuhan bakteri ini ditandai dengan meningkatnya kekeruhan seiring dengan meningkatnya waktu inkubasi. Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dalam medium MRSB terbagi menjadi 4 fase yakni fase adaptasi, fase log, fase stasioner, dan fase kematian. Fase pertama atau *lag phase* terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-6. Pada fase ini pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* masih berjalan lambat dan belum mengalami pertumbuhan yang berarti. Bakteri masih melakukan proses adaptasi dengan medium atau lingkungan yang baru sehingga menyebabkan sel belum dapat melakukan reproduksi atau pembelahan. Pada fase ini hanya memungkinkan terjadinya penambahan ukuran sel, sedangkan jumlah selnya tidak. Fase kedua adalah fase logaritmik (*exponential phase*) ditandai dengan bertambahnya populasi secara signifikan. Pada fase logaritmik ini bakteri sudah mulai beradaptasi dengan medium dan melakukan reproduksi melalui proses pembelahan sel (*binary fission*). Selama fase kedua ini terjadi peningkatan atau penggandaan jumlah sel dalam populasi. Pada fase ini terjadi pembelahan secara cepat dan jumlah sel menjadi dua kali lipat. Fase ini terjadi pada jam ke-8 sampai jam ke-32. Fase ketiga adalah fase stasioner, yakni fase di mana jumlah bakteri berada dalam jumlah yang tetap. Fase ini terjadi pada jam ke-36 sampai jam ke-52, yang mana pada akhir fase ini dihasilkan metabolit sekunder, antibiotik, dan enzim. Fase keempat adalah fase kematian (*death phase*) adalah fase terakhir. Pada fase ini bakterinya sudah mengalami kematian sehingga mengalami penurunan populasi yang drastis.



Gambar 5.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Media MRS Broth

Berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri ini, diketahui bahwa waktu terbaik penggunaan inokulum adalah jam ke-24 yang merupakan setengah dari fase log.

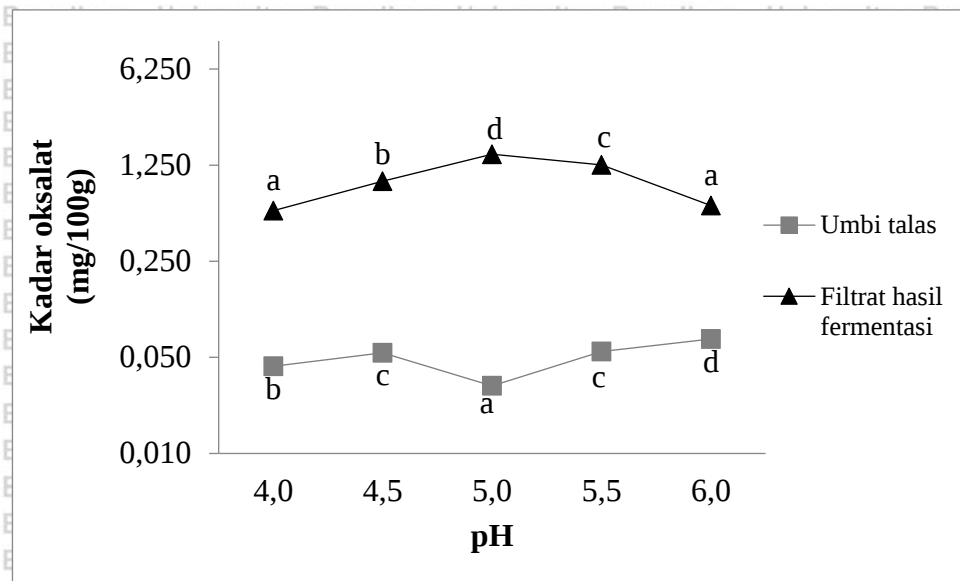
Pada fase log, pertumbuhan bakteri mengalami perkembangan jumlah sel yang sangat signifikan sehingga dapat digunakan sebagai starter pada proses fermentasi talas.

5.2 Kondisi Optimum Fermentasi

Fermentasi umbi talas menggunakan *Lactobacillus plantarum* bertujuan untuk menurunkan zat antinutrisi dalam umbi talas. Antinutrisi tersebut adalah oksalat. Oleh karena itu penentuan kondisi optimum fermentasi didasarkan pada kandungan terendah oksalat dalam umbi talas setelah difermentasi.

5.2.1 Pengaruh Variasi pH pada Proses Fermentasi

Proses fermentasi dipengaruhi oleh pH yang divariasikan yakni pada pH 4; 4,5; 5; 5,5; dan 6. Pengaruh variasi pH dalam proses fermentasi dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Grafik hubungan pH dengan kadar oksalat

Dari Gambar 5.3 diketahui bahwa pH optimum untuk proses fermentasi umbi talas adalah pH 5. Pada pH tersebut kadar oksalat yang ada dalam umbi talas mencapai titik terendah. Uji statistik dengan analisis *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa kondisi pH berpengaruh terhadap besar kadar oksalat yang terkandung dalam umbi talas yang dibuktikan dengan nilai F hitung lebih besar dari pada F tabel. Hasil analisis dengan uji Tukey yang dinyatakan dengan notasi pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa fermentasi pada pH 5 memiliki perbedaan yang nyata jika dibandingkan dengan perlakuan pH lainnya baik pada umbinya maupun pada filtrat hasil fermentasi.

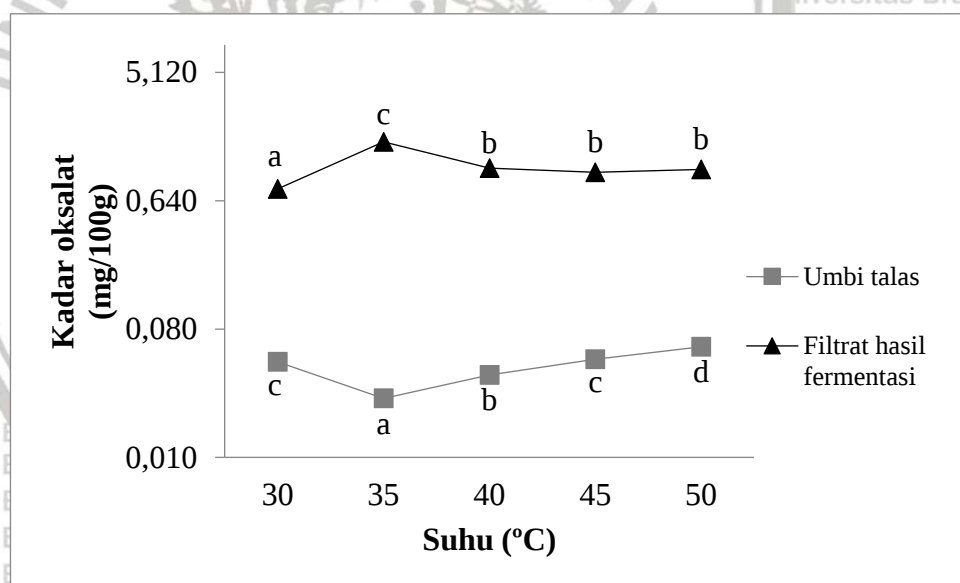
Berdasarkan data penelitian pada gambar 5.3, menurunnya kadar antinutrisi dalam umbi talas dapat terjadi karena *Lactobacillus plantarum* dapat hidup pada kondisi asam dan mencapai kondisi optimumnya pada pH 5. Pada pH tersebut bakteri akan menghasilkan enzim yang memiliki aktivitas maksimum sehingga dapat menurunkan kadar oksalat yang ada pada talas. Kondisi pH di bawah 6 mampu menurunkan ion oksalat divalent terdeprotonasi ($C_2O_4^{2-}$) sehingga dapat mengurangi potensi berikatan dengan mineral kation (Ca^{2+}) untuk membentuk

oksalat tidak terlarut. Hal ini sesuai dengan data pada Gambar 5.3 yang menunjukkan bahwa kadar oksalat pada filtrat cenderung lebih tinggi karena ion oksalat berada dalam bentuk ion divalen terdeprotonasi atau dalam bentuk terlarut.

Hal ini menyebabkan jumlah oksalat terlarut meningkat sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi oleh bakteri anaerobik dan mampu menurunkan kadar antinutrisi berupa oksalat (Simpson et al., 2009).

5.2.2 Pengaruh Variasi Suhu pada Proses Fermentasi

Variasi suhu mampu mempengaruhi proses fermentasi yang dilakukan pada umbi talas. Suhu divariasikan pada 5 keadaan yakni pada 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C, dan 50 °C dengan kondisi pH 5. Pengaruh variasi suhu dalam proses fermentasi dapat dilihat pada gambar 5.4.



Gambar 5.4 Grafik hubungan suhu dengan kadar oksalat

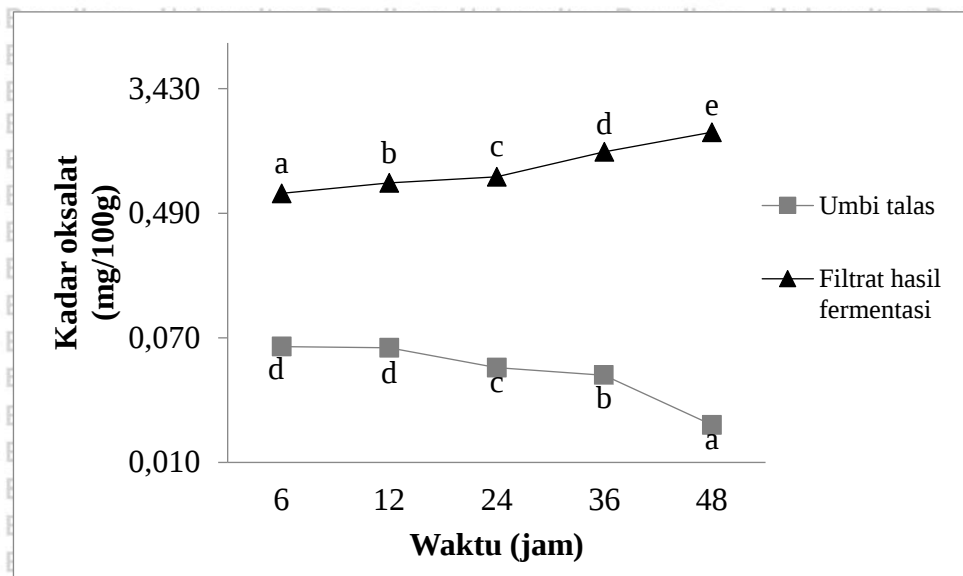
Gambar 5.4 menunjukkan bahwa suhu terbaik untuk melakukan proses fermentasi adalah pada suhu 35 °C. Berdasarkan uji statistik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan analisis *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa suhu berpengaruh terhadap kadar oksalat yang terkandung dalam umbi talas

yang ditunjukkan dengan F hitung lebih besar dari pada F tabel. Hasil analisis dengan uji Tukey yang dinyatakan dengan notasi pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa fermentasi pada suhu 35 °C memiliki perbedaan yang nyata jika dibandingkan dengan perlakuan pada suhu 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C, dan 50 °C.

Berdasarkan data hasil penelitian seperti yang ditampilkan dalam Gambar 5.4, pada suhu 35 °C kadar oksalat dalam tepung talas mengalami penurunan karena pada kondisi ini *Lactobacillus plantarum* dapat tumbuh. Pada suhu tersebut kadar oksalat mencapai level terendah dimungkinkan karena kerja optimal dari bakteri *Lactobacillus plantarum*. Bakteri ini adalah bakteri asam laktat yang hanya mampu hidup pada kisaran suhu 35°C sampai 37°C. Pada suhu yang lebih tinggi akan menyebabkan kematian pada *Lactobacillus plantarum*. Suhu 35 °C adalah suhu terbaik sebagai kondisi hidup bakteri *Lactobacillus plantarum* dalam proses fermentasi ini. Beberapa bakteri memiliki toleransi hidup yang berbeda untuk tetap hidup dan aktif (Buckle, 1987).

5.2.3 Pengaruh Variasi Waktu Inkubasi pada Proses Fermentasi

Lamanya waktu inkubasi dapat mempengaruhi kinerja bakteri *Lactobacillus plantarum* selama proses fermentasi. Pengaruh waktu inkubasi terhadap proses fermentasi umbi talas dapat dilihat pada Gambar 5.5



Gambar 5.5 Grafik hubungan waktu inkubasi dengan kadar oksalat.

Pada grafik terlihat semakin lama waktu inkubasi maka semakin kecil pula kadar oksalat yang terkandung dalam talas. Berdasarkan data penelitian pada Gambar 5.5 diketahui waktu inkubasi terbaik untuk proses fermentasi umbi talas adalah selama 48 jam. Uji statistik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan analisis *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh terhadap kadar oksalat yang terkandung dalam umbi talas yang ditunjukkan dengan *F* hitung lebih besar dari pada *F* tabel. Selain itu, hasil analisis dengan uji Tukey yang dinyatakan dengan notasi pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa fermentasi selama 48 jam memiliki perbedaan yang nyata jika dibandingkan dengan perlakuan waktu inkubasi lainnya.

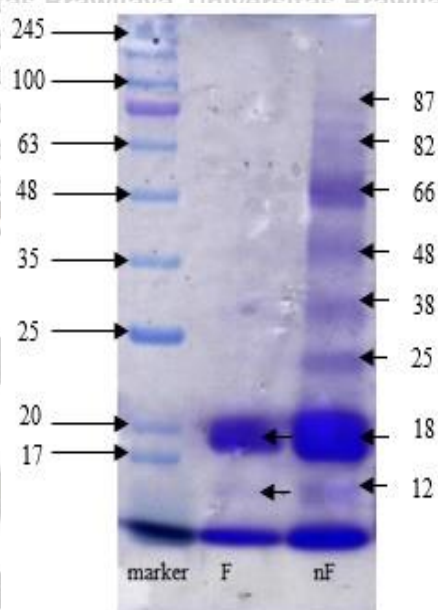
Pada jam ke-48, *Lactobacillus plantarum* mencapai fase stasioner, dimana terjadi kesetimbangan nutrisi. Pada saat ini beberapa enzim disintesis seperti protease dan α -galaktosidase. Enzim-enzim tersebut akan menghidrolisis oksalat yang membentuk kompleks baik dengan protein maupun karbohidrat, menjadi oksalat terlarut. Hal ini ditunjukkan pada ketiga grafik, di mana kandungan oksalat

pada filtrat lebih tinggi dari pada yang ada pada umbi. Enzim-enzim tersebut akan menghidrolisis oksalat yang merupakan antinutrisi, sama seperti yang dilakukan oleh Otunola *et al* (2015) pada fermentasi kacang bambara (*Voandzeia subterranean* L.). Hasil penelitian ini sama seperti pada penelitian terdahulu yang mana fermentasi mampu menurunkan sianida pada singkong dan tanin serta asam fitat pada sorgum (Tefera, 2015; Pranoto, 2013). Produk hidrolisis kompleks oksalat-protein dan oksalat-karbohidrat akan menginduksi enzim syntatase untuk menghasilkan senyawa nutrisi pada talas yang akan memperbaiki karakter tepung seperti yang disajikan pada Tabel 5.2.

5.3 Penentuan Profil Protein Tepung Umbi Talas

Talas kemudian difermentasi dalam kondisi optimum yakni pada pH 5 dan suhu 35 °C selama 48 jam. Umbinya dipisah dari filtratnya dan dikeringkan pada suhu 40 °C selama 24 jam. Umbi kering kemudian digerus sampai halus dan dipreparasi untuk diisolasi proteinnya. Profil protein dari talas ditentukan dengan menggunakan metode *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS PAGE). SDS PAGE adalah metode elektroforesis yang bertujuan untuk memisahkan protein dalam sampel berdasarkan berat molekul. Prinsip kerja dari SDS PAGE adalah denaturasi protein oleh sodium dedosilsulfat yang dilanjutkan dengan pemisahan molekul berdasarkan berat molekulnya dengan menggunakan poliakrilamid. Detergen ionik sodium dedosilsulfat berfungsi untuk mendenaturasi protein dan memberikan muatan negatif pada protein yang akan dianalisis. Gambar 5.6 menunjukkan hasil SDS PAGE berupa profil protein umbi talas yang tidak difermentasi dan yang telah difermentasi dengan *Lactobacillus plantarum*.

Penentuan berat molekul pada penelitian ini dilakukan dengan bantuan marka atau penanda. Menurut Fatchiyah et al., (2011) untuk menentukan berat molekul protein dilakukan dengan menghitung Rf dari masing-masing pita, dari marker yang sudah diketahui berat molekulnya dengan menggunakan rumus Rf.



Gambar 5.6 Profil pita protein tepung umbi talas

Keterangan:

Marker : marker protein

F : tepung yang difermentasi dengan *Lactobacillus plantarum*

nF : tepung yang tidak difermentasi

Dari Gambar 5.6 menunjukkan adanya perbedaan pita protein yang muncul pada masing-masing tepung yang dijelaskan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Perbedaan berat molekul (BM) profil protein

Berat molekul protein (kDa)	Sumuran	
	Tepung difermentasi <i>Lactobacillus plantarum</i>	Tepung non fermentasi
± 12 kDa	✓	✓
± 18 kDa	✓	✓
± 25 kDa	-	✓
± 33 kDa	-	✓
± 48 kDa	-	✓
± 66 kDa	-	✓
± 82 kDa	-	✓
± 87 kDa	-	✓

Hasil analisis profil protein menunjukkan perubahan profil protein sebelum difermentasi dan setelah difermentasi. Dari hasil SDS pada Gambar 5.6 dan Tabel 5.1 terlihat bahwa pada tepung talas yang tidak difermentasi dengan *Lactobacillus plantarum*, pita protein yang muncul adalah 12kDa, 18kDa, 25kDa, 38kDa, 48kDa, 66kDa, 82kDa, dan 87kDa. Akan tetapi, setelah difermentasi terdapat beberapa pita protein yang hilang dan yang muncul hanya pita protein dengan berat molekul 12kDa dan 18kDa. Beberapa pita protein yang hilang ini diduga sebagai protein yang membentuk kompleks alergenik dengan oksalat yang sering menimbulkan rasa gatal ketika dikonsumsi. Hilangnya beberapa pita protein setelah mengalami proses fermentasi diduga karena selama proses fermentasi protein iritan yang menyebabkan rasa gatal ini dikonversi menjadi bentuk atau substrat lain. *Lactobacillus plantarum* menghasilkan protease yang dapat menghidrolisis protein dengan berat molekul tinggi menjadi berat molekul yang lebih rendah. Hal itu juga diduga menyebabkan ikatan kompleks protein dengan oksalat yang bersifat alergenik juga ikut terhidrolisis.

5.4 Penentuan Kadar Protein, Kadar Pati, Amilosa, Amilopektin, dan Kadar Air Tepung Umbi Talas Non Fermentasi dan Fermentasi

Umbi talas yang difermentasi maupun yang tidak difermentasi kemudian diuji untuk menentukan kadar protein, kadar pati, amilosa, amilopektin, dan kadar air.

Tabel 5.2 Karakteristik tepung talas yang difermentasi dan tidak difermentasi

Parameter	Tidak difermentasi (%)	Difermentasi (%)
Kadar protein	7,08 ± 0,22 ^a	8,07 ± 0,37 ^a
Kadar air	0,58 ± 0,06 ^a	0,51 ± 0,03 ^a
Kadar pati	36,23 ± 0,249 ^a	37,19 ± 3,62 ^a
Kadar amilosa	12,44 ± 0,138 ^a	12,87 ± 1,02 ^a
Kadar amilopektin	23,79 ± 0,22 ^a	24,32 ± 4,44 ^a
Kadar oksalat (x10 ⁻⁴)	27,40 ± 1,35 ^a	0,18 ± 0,003 ^b

Data pada Tabel 5.2 menunjukkan perbandingan karakteristik tepung sebelum difermentasi dan setelah difermentasi. Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode Kjeldhal yang terdiri dari 3 tahap yakni tahap dekstruksi, tahap destilasi, dan tahap titrasi. Dari hasil dari uji T diketahui kadar protein pada umbi yang difermentasi dengan yang tidak difermentasi adalah sama (Lampiran 4.11.1).

Namun dari Tabel 5.2 terlihat kadar protein meningkat dari 7,08% menjadi 8,07% setelah difermentasi. Peningkatan kadar protein ini sama seperti pada penelitian yang dilakukan Tefera (2014) pada fermentasi tepung singkong dan tepung taka.

Kenaikan kadar protein juga diduga karena efek pertumbuhan massa sel yang makin bertambah seiring dengan semakin lamanya proses fermentasi. Selama proses fermentasi isolat bakteri asam laktat akan menghasilkan peptidoglikan pada dinding selnya yang tersusun atas komponen glikoprotein dan lipoprotein yang menyebabkan terjadi peningkatan kadar protein (Setiarto *et al*, 2016).

Penentuan kadar pati dilakukan dengan metode spektrofotometri dengan menggunakan reagen Nelson-Somogyi. Dari hasil analisis statistik dengan menggunakan uji T berpasangan diketahui bahwa tidak ada perbedaan kadar pati di dalam tepung sebelum dan setelah difermentasi (Lampiran 4.11.2). Namun dari data

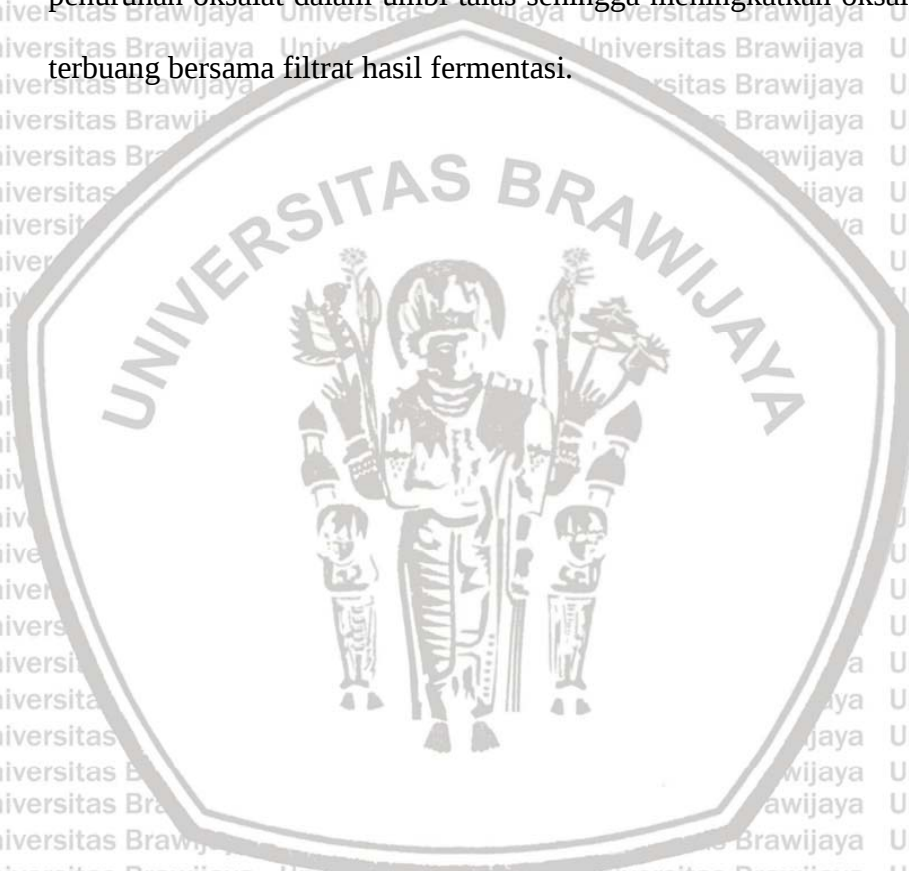
hasil pengukuran terlihat kadar pati meningkat dari 36,23% menjadi 37,19% setelah difermentasi. Pati tersusun atas amilosa dan amilopektin dalam komposisi yang berbeda, sehingga juga ditentukan kadar keduanya di dalam tepung talas.

Penentuan kadar amilosa dengan menggunakan metode spektrofotometri berdasarkan kemampuan bahan pangan untuk bereaksi dengan senyawa iod menghasilkan kompleks berwarna biru. Intensitas warna biru tersebut akan berbeda tergantung pada kadar amilosa dalam bahan pangan yang diuji. Sama seperti pada

kadar pati, hasil analisis uji statistik dengan uji T sampel berpasangan untuk kadar amilosa dan kadar amilopektin juga menunjukkan hasil yang sama yakni tidak ada perbedaan sebelum dan setelah fermentasi. Akan tetapi berdasarkan hasil perhitungan terlihat kadar amilosa meningkat dari 12,44% menjadi 12,87% setelah difermentasi. Sedangkan untuk kandungan amilopektin ditentukan dengan menghitung selisih antara kandungan pati dengan kandungan amilosa. Kadar amilopektin yang diperoleh dari perhitungan juga terlihat meningkat dari 23,80% menjadi 24,32%. Selain itu dari data pada Tabel 5.2 juga ditunjukkan bahwa kandungan amilopektin lebih besar dari pada amilosa. Perbandingan keduanya berpengaruh terhadap sifat kelarutan dan derajat gelatinisasi pati. Kandungan amilopektin yang lebih tinggi daripada amilosa di dalam tepung akan menghasilkan tekstur lebih lunak, garing, dan rasa yang lebih enak pada produk hasil olahannya. Dari tabel 5.1 terlihat terjadi peningkatan kadar pati, amilosa, dan amilopektin, walaupun tidak signifikan. Peningkatan ini dimungkinkan terjadi sebagai hasil kerja enzim syntatase yang diinduksi oleh produk hidrolisis kompleks oksalat-protein dan oksalat-karbohidrat. Enzim tersebut akan menghasilkan senyawa nutrisi sehingga mampu memperbaiki karakter tepung yang dihasilkan dari proses fermentasi.

Pada pengukuran kadar oksalat terjadi perbedaan yang sangat nyata antara tepung yang telah difermentasi dengan sebelum difermentasi (Lampiran 4.11.6). Perbedaan yang sangat signifikan ini membuktikan bahwa proses fermentasi dengan *Lactobacillus plantarum* mampu menurunkan kadar antinutrisi dalam umbi talas. Sesuai dengan hasil dari uji T, kadar oksalat pada umbi yang difermentasi dengan yang tidak difermentasi mengalami perbedaan yang signifikan (Lampiran 4.11.1). Penurunan kadar oksalat dari 27,40 % menjadi 0,18 % membuktikan bahwa

dengan metode fermentasi antinutrisi dalam talas mampu diturunkan. Hal ini sejalan dengan yang dilakukan oleh Otunola yang mampu menurunkan kadar oksalat pada kacang bambara dengan menggunakan metode fermentasi. Penurunan kadar oksalat ini terjadi sebagai hasil kerja enzim yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* yang mampu menghidrolisis kompleks oksalat dengan protein dan juga karbohidrat. Kondisi fermentasi pada pH 5 juga mendukung penurunan oksalat dalam umbi talas sehingga meningkatkan oksalat terlarut yang terbuang bersama filtrat hasil fermentasi.



BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Kondisi optimum untuk melakukan fermentasi dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* adalah pada pH 5, suhu 35 °C, selama 48 jam.
2. Proses fermentasi dengan bakteri *Lactobacillus plantarum* mampu menurunkan kandungan antinutrisi dalam umbi talas yang berupa oksalat dengan persentase penurunan sebesar 27,22%.
3. Hasil elektroforesis SDS PAGE menunjukkan bahwa proses fermentasi mengubah profil protein dalam tepung talas. Hal ini ditunjukkan dengan adanya beberapa pita protein yang hilang pada tepung talas ketika difermentasi.
4. Terjadi perubahan karakter pada tepung talas setelah difermentasi yakni terjadi kenaikan pada kadar pati sebesar 0,96%, kadar amilosa sebesar 0,43%, kadar amilopektin sebesar 0,52%, kadar protein sebesar 0,99%.

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh fermentasi terhadap kadar antinutrisi dalam suatu bahan pangan dengan meningkatkan waktu inkubasinya.

DAFTAR PUSTAKA

Alcantara, R. M., Hurtada, W. A., Dizon, E. I., 2013. The Nutritional Value and Phytochemical Components of Taro (*Colocasia esculenta* (L) Schott) Powder and its Selected Prosesed Foods. Jurnal Nutrition & Food Sciences.

Amalia, R., Yuliana, R., 2013. Studi Pengaruh Proses Perendaman dan Perebusan terhadap Kandungan Kalsium Oksalat pada Umbi Sente (*Alocasia macrorrhiza* (L) Schott). Jurnal Teknologi Kimia dan Industri.

Amon, A.S., Soro, R.Y., Koffi, P.K. 2011. Biochemical Charateristic of Flours from Ivorian Taro (*Colocasia esculenta*, Cv Yatan) Corm as Affected by Boiling Time. Advance Journal of Food Science and Technology.

Williams, S., 1984. *Official Methods Of Analysis*. 14th ed. AOAC, INC, Virginia.

Arıcı, M., Yildirim, R.M. Ozulku, G., 2015. Physicochemical and Nutritional Properties Of Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) Flour As Affected By Drying Temperature And Air Velocity. LWT-Food Science and Technology.

Buckle, K.A., R.A. Edward, G.H. Fleet dan Wootton M. 1987. Ilmu Pangan. diterjemahkan oleh Hari Purnomo & Adiono.: UI-Press: Jakarta.

Bradbury, J. H., Nixon, R. W., 1997. The Acridity of Raphides from the Edible Aroids. J Sci Food Agric.

Bradbury, J. H., Holloway, W. D., 1988. Chemistry of Tropical Root Crops: Significance for Nutrition and Agriculture in the Pacific. Australian Centre for International Agricultural Research; Canberra.

Cahyo, Andri et al. 2014. Kinetics of Calcium Oxalate Reduction in Taro (*Colocasia Esculenta*) Corm Chips during Treatments Using Baking Soda

- Solution. *Procedia Chemistry* 9: 102–12.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2014.05.013>.
- Delgado, A., D. Brito, P. Fevereiro, C. Peres, and J.F. Marques. 2001. Antimicrobial Activity of *L. plantarum*, Isolated From A Traditional Lactic Acid Fermentation Of Table Olives. *INRA, EDP Science*.
- Fatchiyah, Arumingtyas E. L., Widyarti S., Rahayu S., 2011. Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis. Penerbit Erlangga; Jakarta.
- Hidayat, N., Padaga, M. C., Suhartini, S., 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi; Yogyakarta.
- Janson, J.C dan Ryden, L. 1998. Protein Purification: Principles, High Resolution Methods and Application, 2nd Edition. John Willey & Sons Inc. Pub.
- Kaushal, Pragati, Vivek Kumar, and H K Sharma. 2012. LWT-Food Science and Technology Comparative Study of Physicochemical, Functional, Antinutritional and Pasting Properties of Taro (*Colocasia Esculenta*), Rice (*Oryza Sativa*) Flour , Pigeonpea (*Cajanus Cajan*) Flour and Their Blends. *LWT-Food Science and Technology* 48(1): 59–68.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.02.028>.
- Kusnadi, J., Afriyan, T., 2012. The Growth of Proboitic Bacteria *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* in Skim Milk and Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott Var. Boring) Fluor Composite Medium. International Conference on Enviromental and Biological Sciences: Thailand.
- Oke M. O., Bolarinwa I. F. 2011. Effect of Fermentation on Physicochemical Properties and Oxalate Content of Cocoyam (*Colocasia esculenta*) Flour. International Scholarly Research Network.

Oscarsson K. V., Savage, G. P., 2006. Composition and Availability of Soluble and Insoluble Oxalates in Raw and Cooked Taro (*Colocasia esculenta* var. Schott) Leaves. Food Chemistry.

Otunola, E. T., Oyelade, O. J., 2015. *Food Sci Qual Manag.*

Pereira, P. R., Silva J. T., Vericimo M. A., 2015. Crude Extract Taro (*Colocasia esculenta*) As A Natural Source Of Bioactive Proteins Able To Stimulate Haematopoietic Cells In Two Murine Models. Journal Of Functional Foods.

Reddy G.A et al., 2008. Amylolytic Bacterial Lactic Acid Fermentation—A Review. *Biotechnol Adv* 26: 22 – 34. doi: 10. 1016/j.biotechadv. 2007. 07. 004.

Robinson, R.K. 2000. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press. New York.

Rukmana. R, 1998. Budidaya Talas. Swadaya: Jakarta.

Salminen, S. and A. V. Wright. 1993. Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, Inc. New York.

Setiarto R. H., Widhyastuti N. 2016. Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat Kadar Proksimat dan Amilografi Tepung Taka Modifikasi (*Tacca leontopetaloides*). Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia.

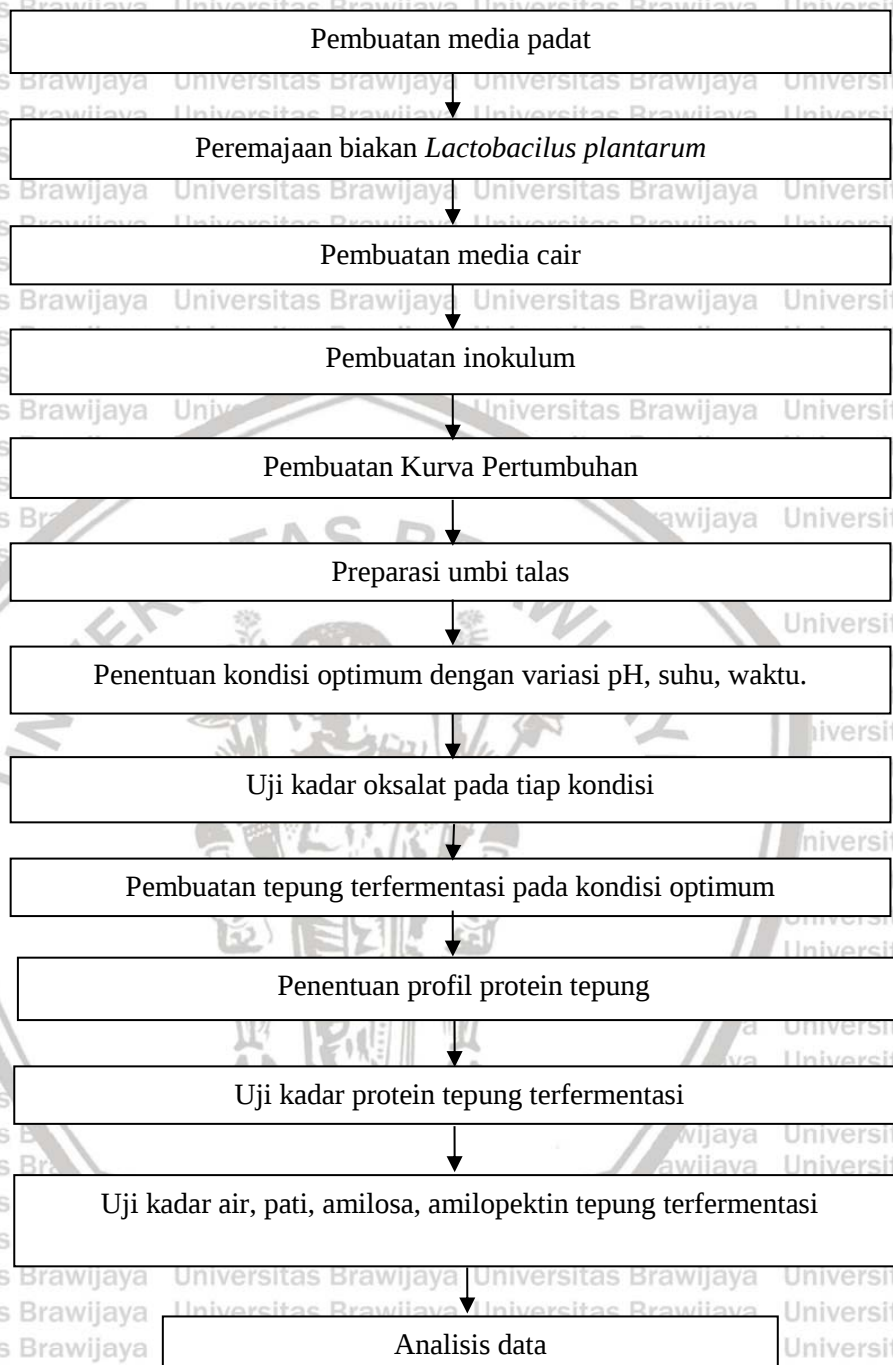
Seo S., Cho S., 2016. Changes in Allergenic and Antinutritional Protein Profiles of Soybean Meal During Solid-State Fermentation with *Bacillus subtilis*. LWT- Food Science and Technology.

Simpson T. S., Savage G. P., Sherlock R., and Vanhanen L. P. 2009. Oxalate Content of Silver Beet Leaves (*Beta vulgaris* Var. *Cicla*) at Different Stages of Maturation and The Effect of Cooking With Different Milk Sourcer. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

- Smith J.E.1990.Prinsip Bioteknologi. Penerjemah:Sumo U.F.Jakarta:Gramdium;1-3
- Pelczar, Michahel J. Jr dan E.C.S. Chan.1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi Cetakan Ke-1. Penerjemah Ratna Sri H dkk. Jakarta UI Press.
- Sopandi, T., Wardah. 20014. Mikrobiologi Pangan (Teori dan Praktek). Penerbit Andi; Yogyakarta.
- Tandrianto J., Mintoko D. K.,Gunawan S., 2014. Pengaruh Fermentasi pada Pembuatan Mocaf (*Modified Cassava Flour*) dengan Menggunakan *Lactobacillus plantarum* terhadap Kandungan Protein. Jurnal Teknik Pomits.
- Trinanda M. A. 2015. Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum*) Terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai Pada Bubur Instan Terfermentasi. Skripsi Universitas Negeri Yogyakarta.
- Tefera, T., K. Ameha, A. Birutesfa. 2013. Cassava Based Foods: Microbial Fermentation by Single Starter Culture Towards Cyanide Reduction, Protein Enhancement and Palability. International Food Research Journal
- Wilson, K., Walker J. 2000. Principles and Techniques of Practical Biochemistry Fifth Edition. United Kingdom, Cambridge University Press.
- Yuwono T. 2005. Biologi Molekuler. Erlangga: Jakarta.
- Zubaidah, E, N. Aldina, dan F.C. Nisa. 2010. Studi Aktivitas Antioksidan Bekatul dan Susu Skim Terfermentasi Bakteri Asam Laktat Probiotik (*Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*). Universitas Brawijaya Jl. Veteran–Malang. Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 11 No. 1 (April 2010) 11-17.

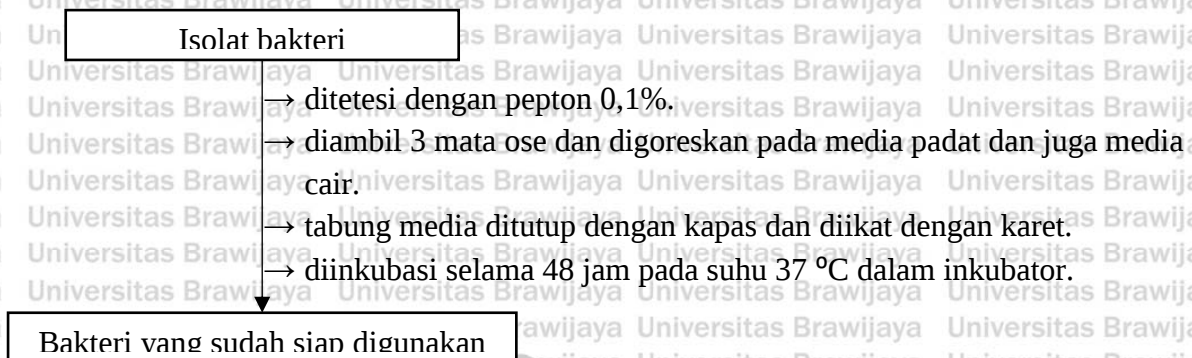
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

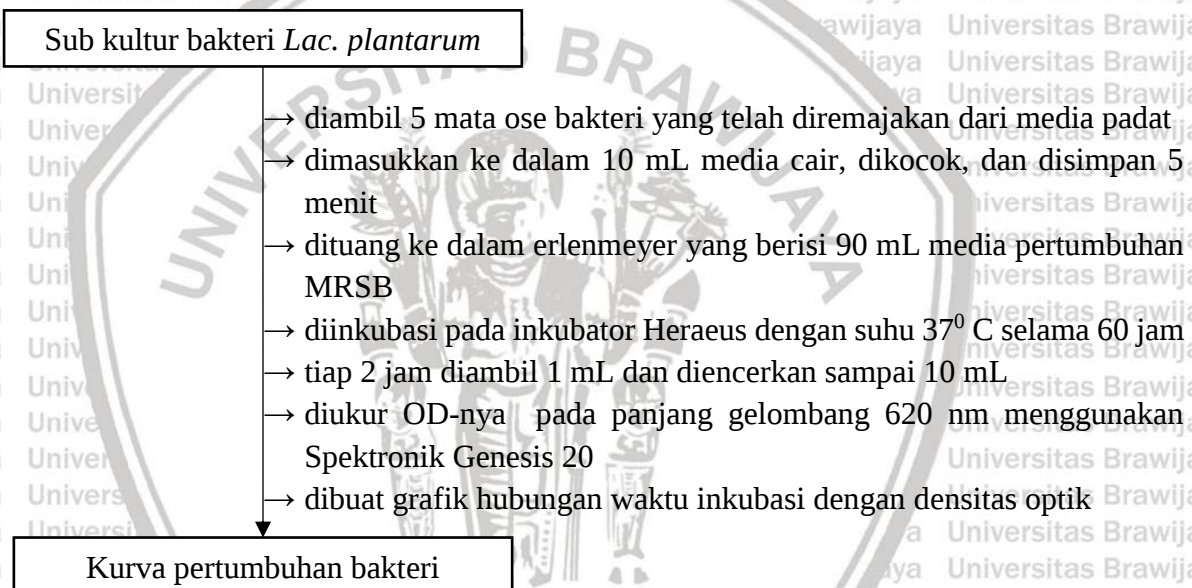


Lampiran 2. Diagram Alir Cara Kerja

2.1 Peremajaan Isolat Bakteri *Lactobacillus plantarum*



2.2 Penentuan Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*



2.3 Uji Oksalat dalam Tepung

a) Penentuan Kadar Oksalat

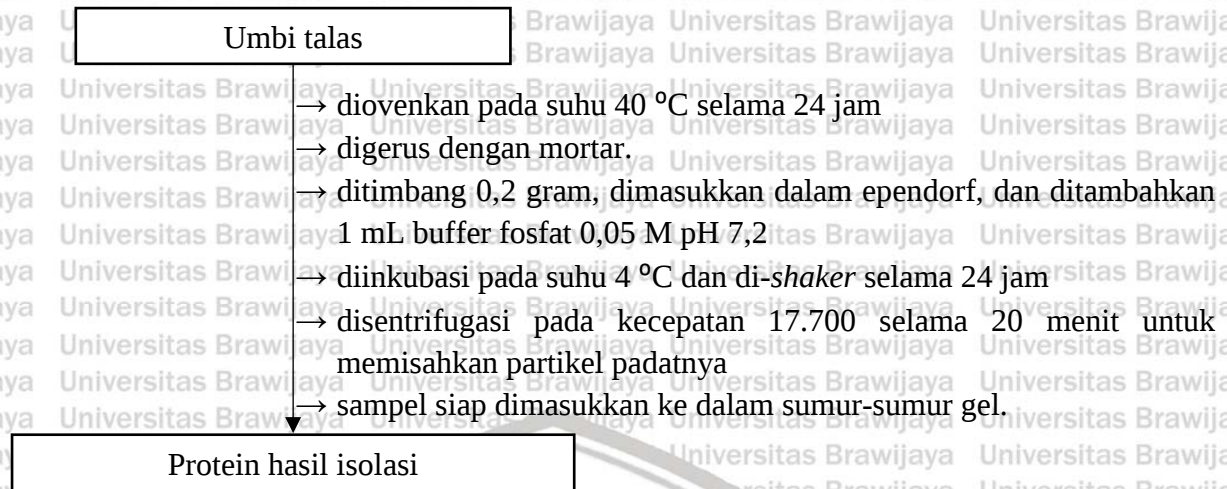
Tepung Umbi Talas

- ditimbang 2 gram dan dimasukkan dalam gelas beker kemudian ditambahkan 58 mL air
- ditambahkan 11 mL HCl 6 M dan 2 tetes caprylic alcohol dan dididihkan sampai 15 menit
- didinginkan dan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan air sampai tanda batas dan didiamkan semalam.
- larutan kemudian disaring dengan kertas saring
- dipipet 25 mL dari filtrat ke dalam erlenmeyer 50 mL dan ditambahkan dengan 5 mL reagen tungstophosphoric, didiamkan selama 8 jam kemudian disaring.
- dipipet 20 mL dari filtrat dan ditambahkan dengan NH_4OH sampai pHnya 4-4,5.
- disentrifus 15 menit untuk memadatkan endapannya kemudian dipisahkan supernatannya.
- endapannya dibilas dengan 10 mL $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 0,1 M kemudian disentrifus lagi dan dituang endapannya.
- diulangi samapi 3 kali.
- endapan dilarutkan ulang dengan 10 mL H_2SO_4 1 M dan dipanaskan.
- dititrasi dengan KMnO_4 0,005 M dan dihentikan ketika larutan mencapai warna merah muda yang stabil.

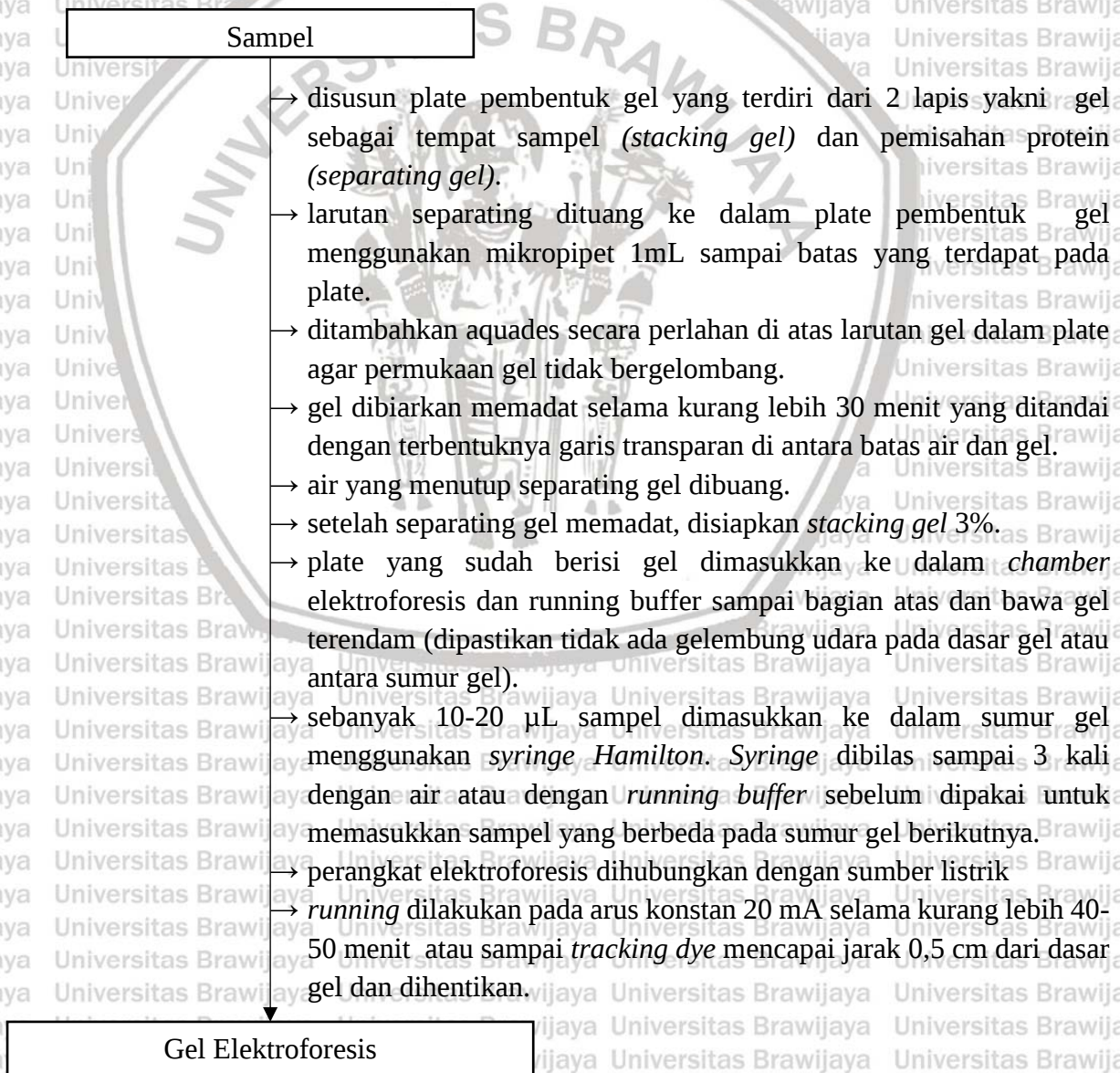
Volume KMnO_4 yang digunakan

2.4 Penentuan Profil Protein Tepung Talas

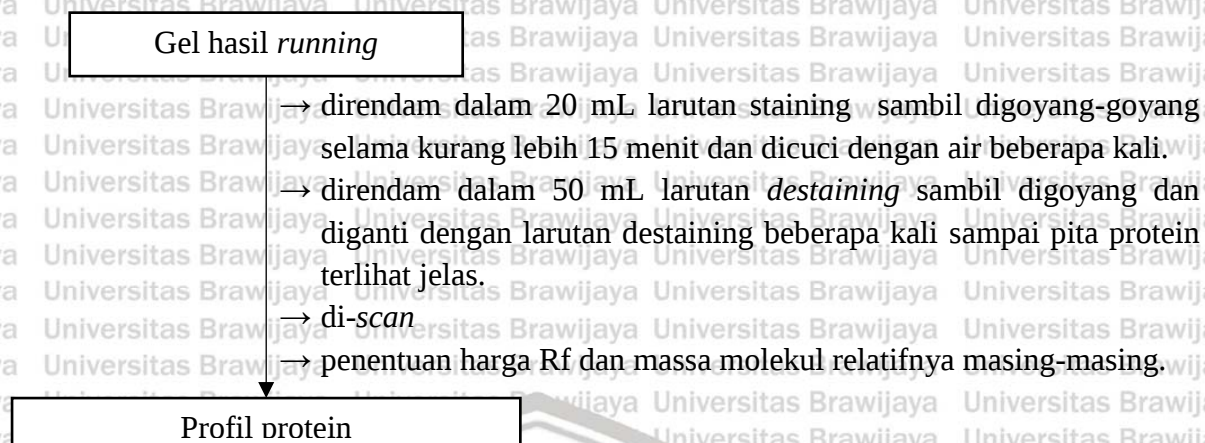
a) Preparasi Sampel



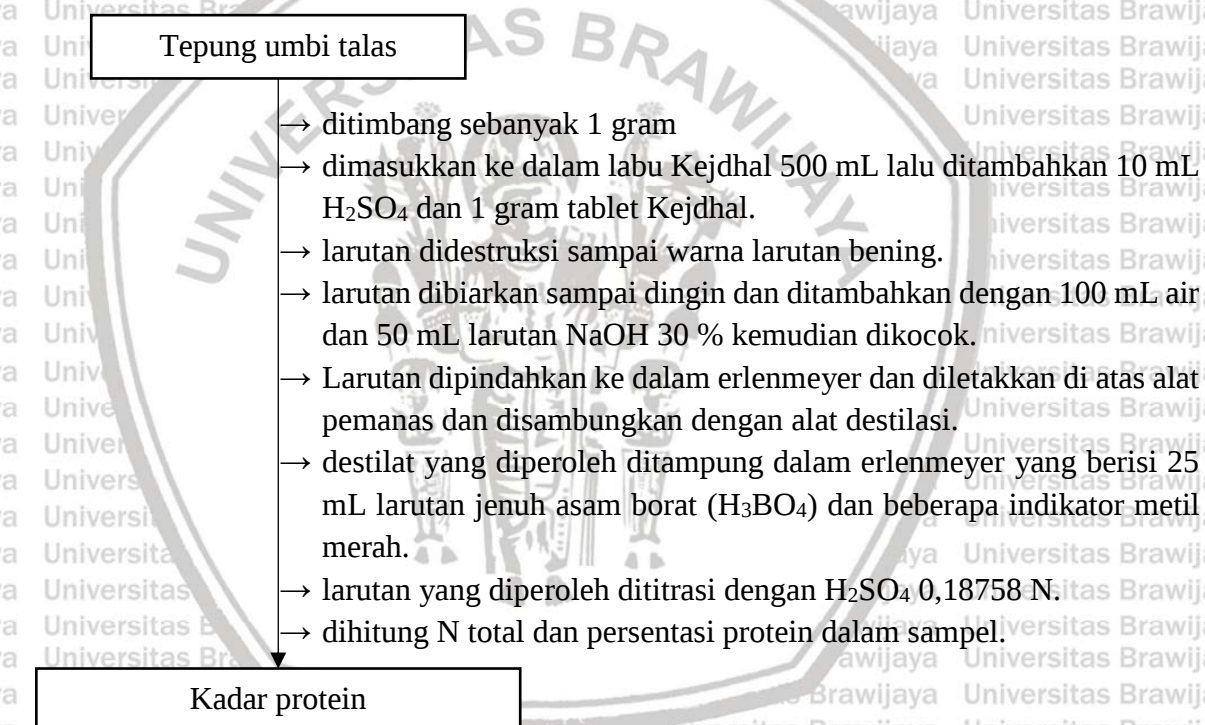
b) Elektroforesis SDS PAGE



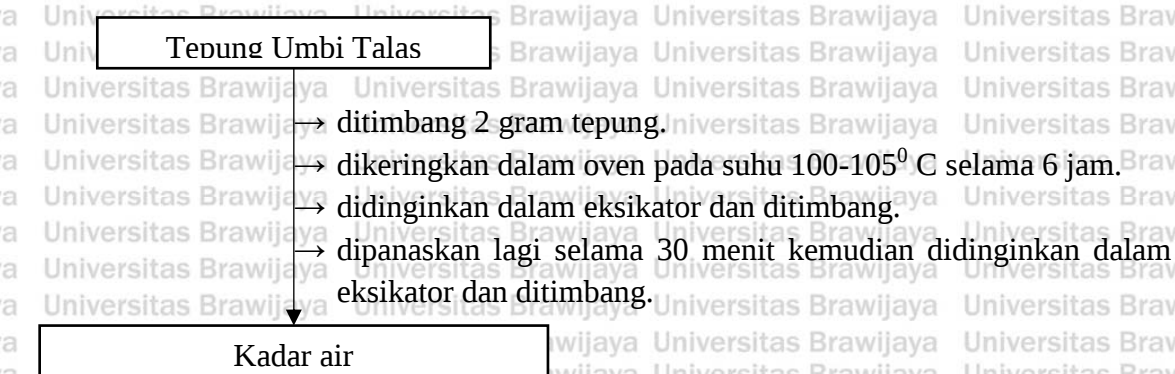
c) Pewarnaan Gel



2.5 Uji Kadar Protein



2.6 Uji Kadar



2.7 Uji Kadar Pati

a) Pembuatan Kurva Standar

Glukosa standar

- dibuat larutan glukosa standar (10mg/100mL)
- diencerkan 6 kali sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10mg/mL.
- tiap larutan pada konsentrasi masing-masing ditempatkan pada tabung reaksi. Disiapkan juga 1 tabung berisi 1 mL air suling sebagai blangko.
- pada tiap tabung ditambahkan 1 mL reagen Nelson dan dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit.
- semua tabung segera dimasukkan dalam gelas berisi air dingin sehingga suhu tabung mencapai 25°C.
- ditambahkan dengan 1 mL reagen arsenomolybdat lalu digojog sampai semua endapan larut sempurna dan ditambahkan dengan 7 mL aquades.
- absorbansinya ditentukan pada $\lambda = 540 \text{ nm}$.

Hasil

b) Penentuan Kadar Pati

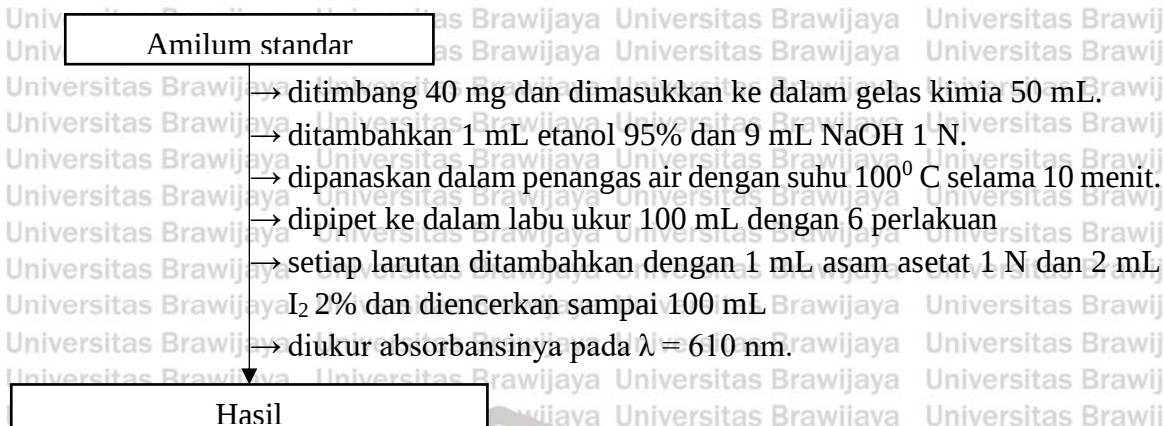
Tepung Umbi Talas

- ditimbang 5 gram
- dimasukkan ke dalam gelas kimia 250 mL, ditambahkan dengan 50 mL akuades, dan diaduk selama 1 jam.
- disaring dan dipisahkan antara residu dan filtrat.
- residu dipindahkan secara kuantitatif dari kertas saring ke dalam erlenmeyer dengan pencucian 200 mL aquades dan ditambahkan dengan 20 mL HCl 25%.
- ditutup dengan pendingin balik dan dipanaskan dalam penangas air yang mendidih selama 2,5 jam.
- setelah dingin, dinetralkan dengan larutan NaOH 45% dan diencerkan sampai 500 mL dan disaring filtrat yang akan digunakan.
- dijernihkan dengan Pb asetat.
- larutan jernih dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 1 mL reagen Nelson.
- dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit dan didinginkan.
- ditambahkan dengan 1 mL reagen arsenomolybdat dan 7 mL aquades dan digojog.
- dilihat absorbansinya pada $\lambda = 540 \text{ nm}$.

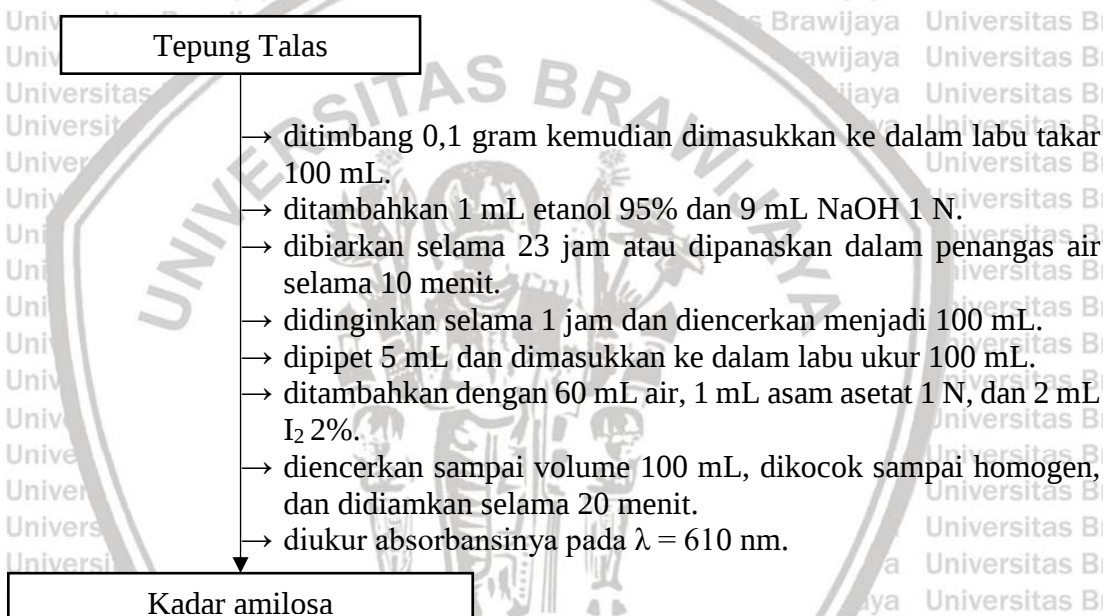
Kadar pati

2.8 Uji Kadar Amilosa

a) Pembuatan kurva standar



b) Penentuan kadar amilosa



2.9 Uji Kadar Amilopektin

Kadar amilopektin = kadar pati – kadar amilosa

3. PREPARASI LARUTAN

3.1 Pepton 0,1%

Ditimbang 0,1 gram pepton dan dilarutkan dalam aquades secukupnya kemudian dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan dengan aquades sampai tanda batas. Larutan pepton 0,1% kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 15 psi pada suhu 121°C.

3.2 Pembuatan media padat agar miring

Pembuatan media padat ini dengan menimbang 6,82 gram MRSA (*Mann Rogosa Sharpe Agar*) kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades dan dimasukkan dengan magnet stirer dalam beaker gelas. Larutan kemudian dipanaskan pada suhu 60°C sampai mendidih. Kemudian larutan dimasukkan ke tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL ditutup dengan kapas, dilapisi kertas coklat dan diikat dengan karet. Larutan MRSA disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan tekanan 15 psi pada suhu 121°C. MRSA yang telah steril dikeluarkan dari autoklaf dan didinginkan pada suhu ruang pada posisi miring sehingga menghasilkan media miring.

3.3 Pembuatan media cair

Media cair dibuat dengan menimbang 5,2 gram MRSB (*Mann Rogosa Sharpe Broth*), dilarutkan dalam 100 mL aquades dan dimasukkan dengan magnet stirer. Larutan kemudian dipanaskan pada suhu 60°C sampai mendidih. Ditutup dengan kapas, kertas coklat dan diikat dengan karet, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 15 psi dan temperatur 121 °C selama 15 menit. MRSB yang telah steril dikeluarkan dari autoklaf dan didinginkan pada suhu ruang.

3.4 Pembuatan Larutan NaH_2PO_4 (natrium dihidrogen fosfat/mononatrium fosfat) 0,2 M

2,4 gram NaH_2PO_4 dilarutkan dalam 50 mL aquades dalam beaker gelas 100 mL kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas.

3.5 Pembuatan Larutan Na_2HPO_4 (disodium fosfat/sodium hidrogen fosfat) 0,2 M

2,84 gram Na_2HPO_4 dilarutkan dalam 50 mL aquades dalam beaker glass 100 mL kemudian dipindahkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas.

3.6 Pembuatan buffer fosfat dengan beberapa pH (4; 4,5; 5; 5,5; 6)

Untuk mendapatkan larutan buffer dengan pH yang diharapkan dengan mencampur larutan NaH_2PO_4 dan larutan Na_2HPO_4 .

a) Pembuatan buffer fosfat dengan pH 4

Untuk membuat larutan buffer fosfat dengan pH 4 larutan NaH_2PO_4 0,2 M yang dicampurkan sebanyak 100 mL, maka volume larutan NaH_2PO_4 0,2 M yang ditambahkan adalah:

$$5 = 7,21 - \log \left(\frac{100 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL}}{V \text{ mL} \times 0,2 \text{ mmol/mL}} \right)$$

$$5 - 7,21 = -\log \frac{100}{V}$$

$$-2,21 = -(\log 100 - \log V)$$

$$-2,21 = -2 + \log V$$

$$-0,21 = \log V$$

$$V = 0,6 \text{ mL}$$

Dipipet sebanyak 100 mL larutan NaH_2PO_4 0,2 M dan dimasukkan ke dalam beaker glass 250 mL, ditambahkan 0,06 mL NaH_2PO_4 0,2 M dan diaduk hingga homogen. Campuran larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan aquades hingga tanda batas. Perhitungan yang sama juga berlaku untuk pembuatan buffer fosfat pH 4,5 sampai 6.

3.7 Pembuatan larutan HCl 6M

Larutan HCL 6 M dibuat dari dari HCl 37% (berat jenis = 1,19g/mL; BM = 36,5 g/mol) dengan cara:

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi HCl} &= \frac{\text{berat jenis} \times \% \times 1000 \text{ mL/L}}{\text{BM}} \\ &= \frac{1,19 \text{ g/mL} \times 37\% \times 1000 \text{ mL/L}}{36,5 \text{ g/mol}} \\ &= 12,06 \text{ mol/L} \\ &= 12,06 \text{ M} \end{aligned}$$

Untuk membuat HCl dengan konsentrasi 6 M dilakukan dengan pengenceran, dengan rumus sebagai berikut:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$12,06 \text{ M} \times V_1 = 6 \text{ M} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 50 \text{ mL}$$

Dipipet larutan HCl dengan pipet ukur 10 mL sebanyak 50 mL, dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi aquades dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas.

3.8 Pembuatan reagen *tungstophosphoric*

Sebanyak 2,5 gram $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan ke dalam campuran 4 mL asam fosfat dan 50 mL air, kemudian dipindahkan ke labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas. Larutan dikocok sampai homogen.

3.9 Pembuatan larutan NaOH 30% dan 45%

Sebanyak 40 gram NaOH padat dilarutkan dalam akuades kemudian dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL. Ke dalam labu takar ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan. Sedangkan untuk NaOH 30 % dibuat dengan cara yang sama akan tetapi padatan NaOH yang digunakan sebanyak 30 gram.

3.10 Pembuatan reagen Nelson

Reagen Nelson dibuat dengan mencampurkan larutan Nelson A dan Nelson B dengan perbandingan 25:1. Sebanyak 7 mL larutan Nelson A dipipet ke dalam gelas kimia kemudian ditambahkan dengan 0,28 mL larutan Nelson B dan dihomogenkan.

3.11 Pembuatan Separating Gel 12,5%

Separating gel dibuat dalam tabung polipropilen 50 mL. Ke dalam tabung dimasukkan 3,125 mL akrilamida dan 2,75 mL 1 M Tris pH 8,8 dan ditutup kemudian digoyang secara perlahan. Dimasukkan 1,505 mL aquades, 75 μL SDS 10%, 75 μL APS 10%, 6,25 μL TEMED ke dalam tabung dan ditutup selanjutnya digoyang perlahan.

3.12 Pembuatan Stacking Gel 3%

Setelah separating gel memadat, disiapkan *stacking gel* dengan cara yang sama pada persiapan *separating gel* dengan volume larutannya adalah 0,45 mL bis-akrilamida 30%, 0,38 mL 1 M Tris pH 6,8, 2,11 mL aquabides, 30 μL SDS 10%, 5 μL TEMED, 30 μL APS 10%.

4. PERHITUNGAN PARAMETER

4.1 Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Tabel L.3.1 Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Waktu (jam)	Optical Density			Rata- rata
	1	2	3	
0	0,001	0,001	0,004	0,002
2	0,001	0,002	0,001	0,001
4	0,002	0,002	0,002	0,002
6	0,010	0,010	0,011	0,010
8	0,030	0,030	0,031	0,030
10	0,103	0,104	0,106	0,104
12	0,234	0,235	0,237	0,235
14	0,261	0,262	0,263	0,262
16	0,272	0,274	0,276	0,274
18	0,294	0,296	0,296	0,295
20	0,335	0,337	0,340	0,337
22	0,336	0,337	0,338	0,337
24	0,337	0,340	0,340	0,339
26	0,377	0,375	0,374	0,375
28	0,364	0,365	0,365	0,365
30	0,387	0,388	0,387	0,387
32	0,471	0,471	0,470	0,471
34	0,478	0,478	0,478	0,478
36	0,474	0,476	0,479	0,476
38	0,478	0,476	0,477	0,477
40	0,480	0,481	0,482	0,481
42	0,485	0,486	0,487	0,486
44	0,510	0,511	0,512	0,510
46	0,509	0,511	0,510	0,501
48	0,508	0,509	0,510	0,511
50	0,500	0,501	0,501	0,509
52	0,495	0,496	0,497	0,476
54	0,475	0,476	0,476	0,464
56	0,463	0,464	0,464	0,464
58	0,380	0,383	0,384	0,382
60	0,360	0,361	0,360	0,360

4.2 Uji Pengaruh pH terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung

4.2.1 Perhitungan Kadar Oksalat dalam Tepung

Kadar oksalat ditentukan dengan menggunakan metode titrasi permanganometri. Berdasarkan hasil titrasi kadar oksalat kemudian ditentukan dengan menggunakan persamaan

berikut:

$$\frac{\text{mg oksalat}}{100 \text{ gr produk}} = \frac{\text{mL } 0,001 \text{ M KMnO}_4 \times 27}{\text{massa sampel (mg)}}$$

27 = 0,045 (mg asam oksalat anhidrat yang ekuivalen dengan 1 mL 0,001 M KMnO₄) x faktor pengenceran x 100

4.2.2 Tabel Kadar Oksalat dalam tepung pada Variasi pH

Variasi pH	Kadar Oksalat (mg/100g)	Rata-rata Kadar (mg/100g)
pH 4	0.041	0.043
	0.043	
	0.045	
pH 4,5	0.055	0.054
	0.055	
	0.053	
pH 5	0.030	0.031
	0.031	
	0.032	
pH 5,5	0.055	0.055
	0.055	
	0.056	
pH 6	0.068	0.068
	0.068	
	0.068	

4.2.3 Uji Statistik Pengaruh pH terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung Talas

a) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

KadarOksalat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.000	4	10	.171

b) Uji ANOVA

ANOVA

KadarOksalat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	4	.001	439.125	.000
Within Groups	.000	10	.000		
Total	.002	14			

c) Uji Tukey

KadarOksalat

Tukey HSD

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
pH 5	3	.03100			
pH 4	3		.04300		
pH 4.5	3			.05433	
pH 5.5	3			.05533	
pH 6	3				.06800
Sig.		1.000	1.000	.822	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4.2.4 Tabel Kadar Oksalat dalam Filtrat pada Variasi pH

Variasi pH	Kadar Oksalat (mg/100g)	Rata-rata Kadar (mg/100g)
pH 4	0.530	0.583
	0.636	
	0.583	
pH 4,5	1.007	0.954
	0.954	
	0.901	
pH 5	1.484	1.501
	1.484	
	1.537	
pH 5,5	1.166	1.254
	1.272	
	1.325	
pH 6	0.689	0.636
	0.583	
	0.636	

4.2.5 Uji Statistik Pengaruh pH terhadap Kadar Oksalat dalam Filtrat

a) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

KadarOksalat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.585	4	10	.681

b) Uji ANOVA

ANOVA

KadarOksalat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.872	4	.468	146.971	.000
Within Groups	.032	10	.003		
Total	1.903	14			

c) Uji Tukey

KadarOksalat

Tukey HSD

pH	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
pH 4	3	.58300			
pH 6	3	.63600			
pH 4.5	3		.95400		
pH 5.5	3			1.25433	
pH 5	3				1.50167
Sig.		.778	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4.3 Uji Pengaruh Suhu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung

4.3.1 Tabel Kadar Oksalat dalam Tepung pada Variasi Suhu

Variasi suhu	Kadar Oksalat (mg/100g)	Rata-rata Kadar (mg/100g)
30° C	0.046	0.047
	0.048	
	0.047	
35° C	0.027	0.026
	0.025	
	0.025	
40° C	0.037	0.038
	0.038	
	0.038	
45° C	0.050	0.049
	0.050	
	0.047	
50° C	0.059	0.060
	0.060	
	0.061	

4.3.2 Uji Statistik Pengaruh Suhu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung Talas

a) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

KadarOksalat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.438	4	10	.292

b) Uji ANOVA

ANOVA

KadarOksalat	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	4	.000	374.700	.000
Within Groups	.000	10	.000		
Total	.002	14			

c) Uji Tukey

KadarOksalat

Tukey HSD

Suhu	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
35	3	.02567			
40	3		.03767		
30	3			.04700	
45	3			.04900	
50	3				.06000
Sig.		1.000	1.000	.283	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4.3.3 Tabel Kadar Oksalat dalam Filtrat pada Variasi Suhu

Variasi suhu	Kadar Oksalat (mg/100g)	Rata-rata Kadar (mg/100g)
30° C	0.795	0.775
	0.779	
	0.750	
35° C	1.622	1.662
	1.690	
	1.675	
40° C	1.060	1.088
	1.111	
	1.094	
45° C	1.033	1.016
	1.044	
	0.970	
50° C	1.060	1.061
	1.062	
	1.060	

4.3.4 Uji Statistik Pengaruh Suhu terhadap Kadar Oksalat dalam Filtrat

a) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

KadarOksalat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.043	4	10	.070

b) Uji ANOVA

ANOVA

KadarOksalat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.286	4	.322	395.399	.000
Within Groups	.008	10	.001		
Total	1.294	14			

c) Uji Tukey

KadarOksalat

Tukey HSD

Suhu	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
30	3	.77467		
45	3		1.01567	
50	3		1.06067	
40	3		1.08833	
35	3			1.66233
Sig.		1.000	.065	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4.4 Uji Pengaruh Waktu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung

4.4.1 Tabel Kadar Oksalat dalam tepung pada Variasi Waktu

Variasi Waktu	Kadar Oksalat (mg/100g)	Rata-rata Kadar (mg/100g)
6 jam	0.059	0.061
	0.061	
	0.062	
12 jam	0.059	0.060
	0.059	
	0.061	
24 jam	0.043	0.044
	0.043	
	0.045	
36 jam	0.041	0.039
	0.038	
	0.038	
48 jam	0.017	0.018
	0.018	
	0.020	

4.4.2 Uji Statistik Pengaruh Waktu terhadap Kadar Oksalat dalam Tepung Talas

a) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

KadarOksalat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.326	4	10	.855

b) Uji ANOVA

ANOVA

KadarOksalat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	4	.001	437.935	.000
Within Groups	.000	10	.000		
Total	.004	14			

c) Uji Tukey

KadarOksalat

Tukey HSD

Waktu	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
48 jam	3	.01833			
36 jam	3		.03900		
24 jam	3			.04367	
12 jam	3				.05967
6 jam	3				.06067
Sig.		1.000	1.000	1.000	.908

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4.4.3 Tabel Kadar Oksalat dalam Filtrat pada Variasi Waktu

Variasi Waktu	Kadar Oksalat (mg/100g)	Rata-rata Kadar (mg/100g)
6 jam	0.662	0.668
	0.668	
	0.673	
12 jam	0.779	0.786
	0.784	
	0.795	
24 jam	0.848	0.867
	0.874	
	0.880	
36 jam	1.261	1.275
	1.272	
	1.293	
48 jam	1.722	1.736
	1.738	
	1.749	

4.4.4 Uji Statistik Pengaruh Waktu terhadap Kadar Oksalat dalam Filtrat

a) Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

KadarOksalat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.340	4	10	.321

b) Uji ANOVA

ANOVA

KadarOksalat	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.309	4	.577	3.455E3	.000
Within Groups	.002	10	.000		
Total	2.311	14			

c) Uji Tukey

KadarOksalat

Tukey HSD

Waktu	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
6 jam	3	.66767				
12 jam	3		.78600			
24 jam	3			.86733		
36 jam	3				1.27533	
48 jam	3					1.73633
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

--	--	--	--	--	--	--

4.5 Penentuan Profil Protein

a) Kurva Standar Marker SDS PAGE

A (cm)	B (cm)	Rf (x)	BM (kDa)	Log BM (y)
0,08	5,88	0,01360544	245	2,38916608
0,22	5,88	0,03741497	180	2,25527251
0,37	5,88	0,06292517	135	2,13033377
0,71	5,88	0,1207483	100	2
0,98	5,88	0,16666667	75	1,87506126
1,41	5,88	0,23979592	63	1,79934055
1,96	5,88	0,33333333	48	1,68124124
2,71	5,88	0,46088435	35	1,54406804
3,55	5,88	0,6037415	25	1,39794001
4,58	5,88	0,77891156	20	1,30103
4,91	5,88	0,83503401	17	1,23044892
5,53	5,88	0,94047619	11	1,04139269

Keterangan:

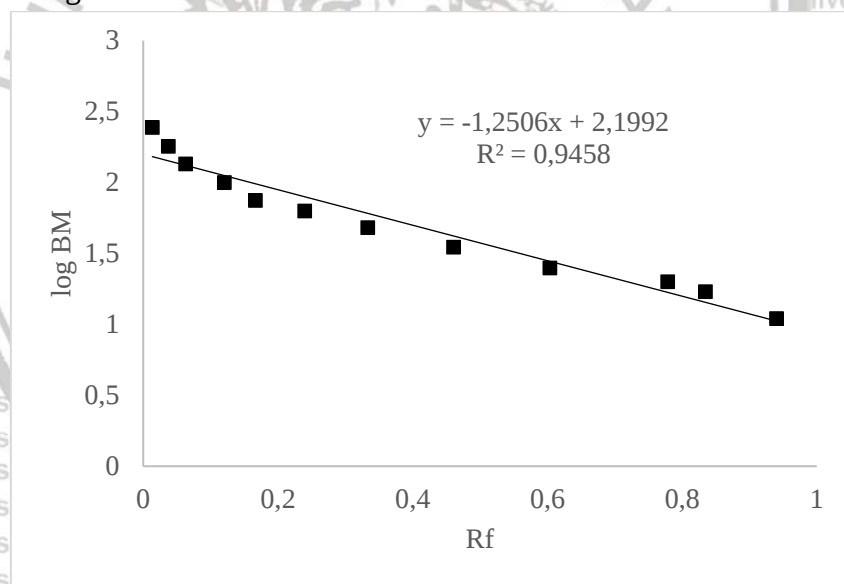
a : jarak batas atas gel hingga pita (cm)

b : jarak batas atas gel hingga batas bawah gel (cm)

Rf : Reterdation factor

BM : berat molekul marker

log BM : logaritma berat molekul marker



b) Perhitungan Berat Molekul Hasil SDS-PAGE

Untuk menentukan berat molekul sampel digunakan persamaan dari kurva standar yakni $y = -1,2506x + 2,1992$ dan dapat dihitung berat molekul sampel dengan mensubstitusikan nilai Rf dan log BM ke dalam persamaan.

Sampel	A	b	Rf	log BM (kDa)	BM (kDa)
Ft	4,39	5,88	0,74659864	1,26550374	18,4290837
	5,2	5,88	0,88435374	1,09322721	12,3944486
	5,72	5,88	0,97278912	0,98262993	9,60793225
nFt	0,84	5,88	0,14285714	2,02054286	104,843825
	1,08	5,88	0,18367347	1,96949796	93,217609
	1,22	5,88	0,20748299	1,93972177	87,0405785
	1,34	5,88	0,22789116	1,91419932	82,0728132
	1,78	5,88	0,30272109	1,82061701	66,1632769
	2,43	5,88	0,41326531	1,68237041	48,1249629
	3,17	5,88	0,53911565	1,52498197	33,4951535
	3,76	5,88	0,63945578	1,3994966	25,0897653
	4,39	5,88	0,74659864	1,26550374	18,4290837
	5,2	5,88	0,88435374	1,09322721	12,3944486
	5,72	5,88	0,97278912	0,98262993	9,60793225

4.6 Perhitungan Kadar Protein

Kadar protein ditentukan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% N = \frac{\text{volume titrasi}}{\text{berat sampel (mg)}} \times N H_2SO_4 \times 14,000 \times 100\%$$

$$\% \text{protein} = \% N \times f_k$$

dengan f_k adalah faktor koreksi untuk tepung talas yakni 6,25.

a) Kadar Protein Tepung Talas Non Fermentasi

$$1. \% N = \frac{4,3 \text{ mL}}{1008 \text{ mg}} \times 0,18758 N \times 14,000 \times 100\%$$

$$= 1,1202 \%$$

$$\% \text{protein} = 1,1202 \times 6,25$$

$$= 7,00 \%$$

$$2. \% N = \frac{4,5 \text{ mL}}{1008 \text{ mg}} \times 0,18758 N \times 14,000 \times 100\%$$

$$= 1,1724 \%$$

$$\% \text{protein} = 1,1724 \times 6,25$$

$$= 7,3275 \%$$

$$\begin{aligned}
 3. \quad \% N &= \frac{4,3 \text{ mL}}{1020,3 \text{ mg}} \times 0,18758 N \times 14,000 \times 100\% \\
 &= 1,1067 \% \\
 \% \text{protein} &= 1,1067 \times 6,25 \\
 &= 6,917\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata - rata kadar protein} &= \frac{7,00\% + 7,3275\% + 6,917\%}{3} \\
 &= 7,082\%
 \end{aligned}$$

b) Kadar Protein Tepung Talas Terfermentasi

$$\begin{aligned}
 1. \quad \% N &= \frac{4,79 \text{ mL}}{1014,8 \text{ mg}} \times 0,18758 N \times 14,000 \times 100\% \\
 &= 1,23956 \% \\
 \% \text{protein} &= 1,23956 \times 6,25 \\
 &= 7,74725 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \quad \% N &= \frac{4,90 \text{ mL}}{1006,1 \text{ mg}} \times 0,18758 N \times 14,000 \times 100\% \\
 &= 1,279 \% \\
 \% \text{protein} &= 1,278\% \times 6,25 \\
 &= 7,99375 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \quad \% N &= \frac{5,21 \text{ mL}}{1008,2 \text{ mg}} \times 0,18758 N \times 14,000 \times 100\% \\
 &= 1,3571 \% \\
 \% \text{protein} &= 1,3571 \times 6,25 \\
 &= 8,4819 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata - rata kadar protein} &= \frac{7,74725\% + 7,99375\% + 8,4819\%}{3} \\
 &= 8,0743\%
 \end{aligned}$$

4.7 Perhitungan Kadar Air

Kadar air ditentukan dengan persamaan berikut ini:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{berat total awal} - \text{berat total akhir}}{\text{berat total awal}} \times 100\%$$

a) Kadar Air Tepung Non Fermentasi

$$\begin{aligned}
 1. \quad \text{Kadar air} &= \frac{21,6710 - 21,5552}{21,6710} \times 100\% \\
 &= 0,534\%
 \end{aligned}$$

$$2. \text{ Kadar air} = \frac{24,4592 - 24,3211}{24,4592} \times 100\%$$

$$= 0,564\%$$

$$3. \text{ Kadar air} = \frac{24,4492 - 24,2884}{24,4492} \times 100\%$$

$$= 0,658\%$$

$$\text{Rata - rata kadar air} = \frac{0,534\% + 0,564\% + 0,658\%}{3} \\ = 0,585\%$$

b) Kadar Air Tepung Talas Terfermentasi

$$1. \text{ Kadar air} = \frac{23,6089 - 23,4636}{23,6089} \times 100\% \\ = 0,552\%$$

$$2. \text{ Kadar air} = \frac{23,5813 - 23,4636}{23,5813} \times 100\% \\ = 0,499\%$$

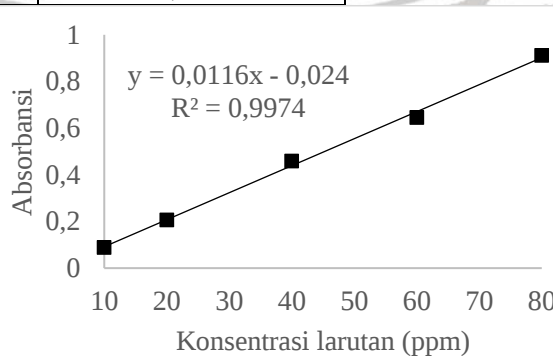
$$3. \text{ Kadar air} = \frac{23,5910 - 23,4751}{23,5910} \times 100\% \\ = 0,491\%$$

$$\text{Rata - rata kadar air} = \frac{0,552\% + 0,499\% + 0,491\%}{3} \\ = 0,514\%$$

4.8 Perhitungan Kadar Pati

a) Pembuatan Kurva Baku Glukosa

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,089
20	0,206
40	0,459
60	0,645
80	0,912



b) Penentuan Kadar Pati Tepung Non Fermentasi

Untuk penentuan kadar pati terlebih dahulu ditentukan kadar gula reduksinya dengan mensubstitusikan absorbansi dari tiap sampel yang diperoleh ke dalam persamaan garis yang diperoleh dari kurva standar yakni;

$$y = 0,0116x - 0,024$$

sehingga dapat ditentukan kadar pati dengan rumus;

$$\text{kadar pati} = \text{kadar gula reduksi} \times \text{faktor koreksi} \times 100\%$$

$$= \text{kadar gula reduksi} \times 0,9 \times 100\%$$

$$\begin{aligned} 1. \quad A &= 0,435 & \text{Kadar pati} &= 39,569 \times 0,9 \times 100\% \\ 0,435 &= 0,0116x - 0,024 & &= 35,612\% \end{aligned}$$

$$0,435 + 0,024 = 0,0116x$$

$$x = \frac{0,459}{0,0116}$$

$$x = 39,569$$

$$\begin{aligned} 2. \quad A &= 0,450 & \text{Kadar pati} &= 40,862 \times 0,9 \times 100\% \\ 0,450 &= 0,0116x - 0,024 & &= 36,776\% \end{aligned}$$

$$0,450 + 0,024 = 0,0116x$$

$$x = \frac{0,474}{0,0116}$$

$$x = 40,862$$

$$\begin{aligned} 3. \quad A &= 0,444 & \text{Kadar pati} &= 40,345 \times 0,9 \times 100\% \\ 0,444 &= 0,0116x - 0,024 & &= 36,311\% \end{aligned}$$

$$0,444 + 0,024 = 0,0116x$$

$$x = \frac{0,468}{0,0116}$$

$$x = 40,345$$

$$\begin{aligned} \text{Rata - rata kadar pati} &= \frac{35,612\% + 36,776\% + 36,311\%}{3} \\ &= 36,233\% \end{aligned}$$

c) Perhitungan Kadar Pati Terfermentasi

$$\begin{aligned} 1. \quad A &= 0,459 & \text{Kadar pati} &= 41,638 \times 0,9 \times 100\% \\ 0,459 &= 0,0116x - 0,024 & &= 37,474\% \end{aligned}$$

$$0,459 + 0,024 = 0,0116x$$

$$x = \frac{0,483}{0,0116}$$

$$x = 41,638$$

$$2. \quad A = 0,407 \quad \text{Kadar pati} = 37,155 \times 0,9 \times 100\% \\ 0,407 = 0,0116x - 0,024 \quad = 33,440 \%$$

$$0,407 + 0,024 = 0,0116x$$

$$x = \frac{0,431}{0,0116}$$

$$x = 37,155$$

$$3. \quad A = 0,500 \quad \text{Kadar pati} = 45,172 \times 0,9 \times 100\% \\ 0,500 = 0,0116x - 0,024 \quad = 40,655 \%$$

$$0,500 + 0,024 = 0,0116x$$

$$x = \frac{0,524}{0,0116}$$

$$x = 45,172$$

$$\text{Rata-rata kadar pati} = \frac{37,474\% + 33,440\% + 40,655\%}{3} \\ = 37,190\%$$

4.9 Perhitungan Kadar Amilosa

a) Pembuatan Kuva Baku Amilosa

Konsentrasi	Absorbansi	Absorbansi/konsentrasi
2	0,212	0,106
4	0,284	0,071
6	0,310	0,051
8	0,362	0,045
12	0,391	0,032
16	0,432	0,027

$$\text{Absorbansirata - rata 1 ppm} = \frac{\sum (\text{absorbansi/konsentrasi})}{\text{jumlah variasi konsentrasi}}$$

$$= \frac{0,332}{6}$$

$$= 0,055$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{1}{\text{absrata - rata 1 ppm}} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$= \frac{1}{0,055} \times 0,02$$

$$= 0,363$$

Sehingga untuk menentukan kadar amilosa dapat digunakan persamaan berikut:

$$\text{Kadar amilosa} = \frac{\text{absorbansirata - rata} \times \text{faktor koreksi} \times 100}{100 - \text{kadar air}} \times 100\%$$

b) Perhitungan Kadar Amilosa Tepung Non Fermentasi

$$1. \text{ Kadar amilosa} = \frac{0,339 \times 0,363 \times 100}{100 - 0,585} \times 100\%$$

$$= \frac{12,306}{99,415} \times 100\%$$

$$= 12,378 \%$$

$$2. \text{ Kadar amilosa} = \frac{0,338 \times 0,363 \times 100}{100 - 0,585} \times 100\%$$

$$= \frac{12,269}{99,415} \times 100\%$$

$$= 12,342\%$$

$$3. \text{ Kadar amilosa} = \frac{0,345 \times 0,363 \times 100}{100 - 0,585} \times 100\%$$

$$= \frac{12,524}{99,415} \times 100\%$$

$$= 12,597\%$$

$$\text{Rata - rata kadar amilosa} = \frac{12,378\% + 12,342\% + 12,597\%}{3}$$

$$= 12,439\%$$

c) Perhitungan Kadar Amilosa Tepung Terfermentasi

$$1. \text{ Kadar amilosa} = \frac{0,330 \times 0,877 \times 100}{100 - 0,514} \times 100\%$$

$$= \frac{11,979}{99,486} \times 100\%$$

$$= 12,040\%$$

$$2. \text{ Kadar amilosa} = \frac{0,384 \times 0,363 \times 100}{100 - 0,514} \times 100\%$$

$$= \frac{13,940}{99,486} \times 100\%$$

$$= 14,012 \%$$

$$3. \text{ Kadar amilosa} = \frac{0,344 \times 0,363 \times 100}{100 - 0,514} \times 100\%$$

$$= \frac{12,487}{99,486} \times 100\%$$

$$= 12,552\%$$

$$\text{Rata - rata kadar amilosa} = \frac{12,040\% + 14,012\% + 12,552\%}{3} = 12,868\%$$

4.10 Perhitungan Kadar Amilopektin

Kadar amilopektin merupakan selisih dari kadar pati dan kadar amilosa dari tepung tersebut. Kadar amilopektin tepung dapat ditentukan dengan persamaan berikut ini:

Kadar amilopektin = kadar pati – kadar amilosa

a) Kadar Amilopektin Tepung Talas Non Fermentasi

$$1. \text{ Kadar amilopektin} = 35,612\% - 12,378\%$$

$$= 23,234\%$$

$$2. \text{ Kadar amilopektin} = 36,776\% - 12,342\%$$

$$= 24,434\%$$

$$3. \text{ Kadar amilopektin} = 36,311\% - 12,597\%$$

$$= 23,714\%$$

$$\text{Rata - rata kadar amilopektin} = \frac{23,234\% + 24,434\% + 23,714\%}{3} = 23,794\%$$

b) Kadar Amilopektin Tepung Talas Terfermentasi

$$1. \text{ Kadar amilopektin} = 37,474\% - 12,040\%$$

$$= 25,434\%$$

$$2. \text{ Kadar amilopektin} = 33,440\% - 14,012\%$$

$$= 19,428\%$$

$$3. \text{ Kadar amilopektin} = 40,655\% - 12,552\%$$

$$= 28,103\%$$

$$\text{Rata - rata kadar amilopektin} = \frac{25,434\% + 19,428\% + 28,103\%}{3} = 24,321\%$$

4.11 Uji Statistik Karakteristik Tepung dengan Uji T Berpasangan

4.11.1 Uji Kadar Protein

a) Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SebelumFermentasi	.313	3	.	.894	3	.367
SesudahFermentasi	.254	3	.	.964	3	.633

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji T berpasangan

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	SebelumFermentasi - SesudahFermentasi	-.992667	.497307	.287120	-2.228046	.242713	-3.457	2	.074

4.11.2 Uji Kadar Air

a) Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SebelumFermentasi	.296	3	.	.918	3	.447
SesudahFermentasi	.341	3	.	.846	3	.231

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji T Berpasangan

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	SebelumFermentasi - SesudahFermentasi	.071333	.092662	.053499	-.158853	.301520	1.333	2	.314

4.11.3 Uji Kadar Pati

a) Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SebelumPerlakuan	.220	3	.	.987	3	.779
SetelahPerlakuan	.176	3	.	1.000	3	.985

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji T Berpasangan

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	SebelumPerlakuan - SetelahPerlakuan	-.798667	3.873769	2.236522	-10.421642	8.824309	-.357	2	.755

4.11.4 Uji Kadar Amilosa

a) Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SebelumFermentasi	.337	3	.	.853	3	.250
SesudahFermentasi	.288	3	.	.928	3	.483

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji T Berpasangan

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	SebelumFermentasi - SesudahFermentasi	-.429000	1.084676	.626238	-3.123486	2.265486	-.685	2	.564

4.11.5 Uji Kadar Amilopektin

a) Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SebelumFermentasi	.219	3	.	.987	3	.780
SesudahFermentasi	.266	3	.	.953	3	.583

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji T Berpasangan

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	SebelumFermentasi - SesudahFermentasi	-.527667	4.915692	2.838076	-12.738923	11.683590	-.186	2	.870

4.11.6 Uji Kadar Oksalat

a) Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SebelumFermentasi	.196	3	.	.996	3	.878
SetelahFermentasi	.219	3	.	.987	3	.780

a. Lilliefors Significance Correction

b) Uji T Berpasangan

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
					Mean	Std. Deviation			
Pair 1	SebelumFermentasi - SetelahFermentasi	.0027223333	.00013775461	.00007953266	.00238013190	.00306453476	34.229	2	.001

4.11.7 Sertifikat Mikrobial


UNIVERSITAS GADJAH MADA
PUSAT STUDI PANGAN DAN GIZI

SERTIFIKAT MIKROBIA
PSPG-FNCC/66/V/2017

Lactobacillus plantarum FNCC 0027

Pengecatan gram	: Positif
Bentuk sel	: Batang pendek
Susunan sel	: Bergandengan
Kebutuhan oksigen	: Fakultatif anaerob/ mikro aerofilik
Motilitas	: Tidak motil (tidak bergerak)
Pembentukan Spora	: Tidak
Fermentasi Gula	: Laktosa, Glukosa, Fruktosa, membentuk Asam laktat
Katalase	: Negatif
pH optimum	: 4,5-7,5
Suhu Optimum	: 37°C
Media pertumbuhan	: MRS
Pathologi	: Bukan pathogen
Bentuk penyimpanan	: Liophilisasi dg cryoprotectan skim milk + MSG

Cara pembiakan : Ampul dibuka secara aseptis, kapas penutup dibuka kemudian disuspensikan dg larutan pepton 0.1 % (beberapa tetes) , selanjutnya diinokulasikan ke media MRS broth terus diinkubasi suhu 37°C selama 48 jam.

Yogyakarta, 19 Mei 2017
Kuratur FNCC

Prof. Dr. Ir. Endang S. Rahayu

4.11.8 Sertifikat Bebas Plagiasi

18 0310 T


KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
PASCASARJANA

SERTIFIKAT BEBAS PLAGIASI
Nomor: 1537/UN10.F40/PN/2018
Sertifikat ini diberikan kepada:

Nama	: Maria Natalia Wewo
NIM	: 156090200111007
Program Studi	: Program Magister Kimia
Fakultas	: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas	: Universitas Brawijaya

Dengan Judul Tesis
Kadar Antinutrisi, Profil Protein, dan Karakteristik Tepung Talas (*Colocasia esculenta*) Yang Difermentasi dengan Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum*.

Telah dideteksi tingkat plagiasinya secara online pada tanggal 9 Juli 2018 dan dinyatakan bebas plagiasi dengan kriteria toleransi $\leq 5\%$.

Malang, 9 Juli 2018
Ketua Badan Penerbitan Jurnal

Lukman Hakim, SSI, M.Sc, Dr.Sc
NIP. 19820412 200812 1 002


Abdul Hakim, M.Si
NIP. 198503 1 005



plagiarism-detector
Cutting-edge class tool for plagiarism detection and prevention