

Kode/Nama Rumpun Ilmu : 213 / Nutrisi dan Makanan Ternak

LAPORAN TAHUN TERAKHIR

PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI (PT-UPT)

DANA UMBY



PENGARUH LEVEL INOKULUM *ASPERGILLUS NIGER* TERHADAP KANDUNGAN NUTRIEN ONGGOK FERMENTASI

Tahun ke 1 dari rencana 1 tahun

Dr. Ir. Sundari, M.P. (NIDN 0012086501)

Dr. Ir. Bayu Kanetro, M.P. (NIDN 0529036201)

FAKULTAS AGROINDUSTRI

UNIVERSITAS MERCU BUANA YOGYAKARTA

November, 2017

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN TERAPAN-UNGGULAN PERGURUAN TINGGI

Judul Kegiatan	: Pengaruh Level Inokulum <i>Aspergillus Niger</i> Terhadap Kandungan Nutrien Onggok Fermentasi .
Kode/Nama Rumpun Ilmu Peneliti	: 213 / Nutrisi dan Makanan Ternak
Nama Lengkap	: Dr. Ir. Sundari, M.P.
a. NIDN	: 0012086501
b. Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
c. Program Studi	: Peternakan
d. Nomor HP	: 081328746141
e. Alamat surel (e-mail)	: sundari_umby@yahoo.com
Anggota Peneliti (1)	
a. Nama Lengkap	: Dr. Ir. Bayu Kanetro, M.P.
b. NIDN	: 0529036801
c. Perguruan Tinggi	: Universitas Mercu Buana Yogyakarta
Anggota Peneliti (2)	
a. Nama Lengkap	: -
b. NIM	: -
c. Perguruan Tinggi	: -
Institusi Mitra	:
a. Nama Institusi Mitra	: -
b. Alamat	: -
c. Penanggung Jawab	: -
Lama Penelitian Keseluruhan	: 1 Tahun
Tahun Pelaksanaan	: Tahun ke- 1 dari rencana 1 tahun.
Biaya Penelitian Keseluruhan	: Rp 5.000.000,00
Biaya Penelitian Tahun Berjalan	: Rp 5.000.000,00

Yogyakarta, 03 - 11 - 2017

Mengetahui,
Dekan Fakultas Agroindustri

Ketua Peneliti,

(Ir. Wafit Dinarto, M.Si.)
NIP 196511301991031002

(Dr. Ir. Sundari, M.P.)
NIP 196508121994032001

Menyetujui,
Ketua LPPM

Dr. Ir. Bayu Kanetro, MP.
NIDN 0529036801

Pengaruh Level Inokulum *Aspergillus Niger* Terhadap Kandungan Nutrien Onggok Fermentasi

RINGKASAN¹⁾

Oleh : Sundari dan Bayu Kanetro

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui level inokulum *Aspergillus niger* yang paling baik terhadap kandungan nutrien onggok fermentasi. Penelitian dirancang menggunakan Rancangan acak lengkap pola searah, yaitu 5 perlakuan level inokulum *Aspergillus niger* dengan 3 ulangan pada setiap perlakuan. Bahan yang digunakan yaitu tepung onggok, yang selanjutnya akan difermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus niger* dengan level 0% (kontrol), 2, 4, 6, 8 dan 10%. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan Analisis variansi pola searah, jika ada perbedaan nyata diantara perlakuan akan diuji lanjut menggunakan DMRT. Hasil anova menunjukkan bahwa terjadi perbedaan nyata ($P<0,05$) pada semua variabel kandungan nutrien, yaitu peningkatan bahan kering, abu dan protein kasar, serta penurunan lemak kasar dan serat kasar. Disimpulkan bahwa level inokulum *Aspergillus niger* yang paling optimal untuk memfermentasi onggok yaitu 10%, dapat meningkatkan kadar protein kasar sebesar 2,59% dan menurunkan kadar serat kasar sebesar 19,78%.

Kata kunci: Inokulum, *Aspergillus niger*, Nutrien, Onggok, Fermentasi.

¹ Ringkasan Laporan Akhir Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PT-UPT) Dana UMBY 2017.

PRAKATA

Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas petunjuk dan bimbingannya sehingga kami dapat melaksanakan penelitian sampai tersusunnya Laporan Akhir ini. Dengan terselesaikannya Laporan Penelitian Terapan UPT ini, tak lupa kami ucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Rektor UMBY beserta Ketua dan staff LPPM UMBY yang telah memberikan fasilitas dan Dana Bantuan Pelaksanaan Penelitian Terapan UPT ini.
2. Bapak Dekan Fakultas Agroindustri Universitas Mercu Buana Yogyakarta beserta staff yang telah memperlancar pengadministrasian Proposal dan Laporan Penelitian Terapan UPT ini.
3. Segenap Tim Peneliti, Laboran dan Mahasiswa pendukung yang telah memberikan fasilitas, waktu, tenaga dan tempat dalam pelaksanaan program ini.

Akhirnya kami berharap agar semua ini dapat bermanfaat bagi kita semua,
Aamiin.

Yogjakarta, 2 November 2017

Ketua Peneliti

(Dr. Ir. Sundari, M.P.)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	12
BAB 4. METODE PENELITIAN	13
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	26
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN (bukti luaran yang didapatkan).....	44
- Instrumen.....	44
- Personalia tenaga pelaksana beserta kualifikasinya.....	48
- Artikel ilmiah (<i>reprint Naskah publikasi ijser Vol...(...): -</i>).....	49
- HKI, publikasi dan produk penelitian lainnya.	53

DAFTAR TABEL

No. Tabel	Nama Tabel	Halaman
1.	Kadar air onggok fermentasi (%)	27
2.	Kadar abu onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering	29
3.	Kadar protein kasar onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering	31
4.	Kadar lemak kasar onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering	34
5.	Kadar serat kasar onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering	36

DAFTAR GAMBAR

No. Gambar	Nama gambar	halaman
1.	Bagan Fraksi Analis Proksimat (Fachrudin, 2012).....	8
2.	Diagram Alir Metode Penelitian.....	16
3.	Produk Penelitian berupa : Gambar foto Metode pembuatan Star-niger tahap : a sd c.....	38
	a. Tahap inokulasi <i>Aspergillus niger</i>	38
	b. Tahap pembuatan inokulum padat <i>Aspergillus niger</i>	38
	c. Tahap Fermentasi Onggok	40

DAFTAR LAMPIRAN

No.Lampiran	Nama Lampiran	halaman
1.	Instrumen.....	51
2.	Personalia tenaga pelaksana beserta kualifikasinya.....	52
3.	Reprint Artikel ilmiah..... Publish di ijser Vol...No....halaman :.....-	53
4.	HKI, publikasi dan produk penelitian lainnya.....	54

BAB 1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pada saat ini pengembangan di bidang peternakan dihadapkan pada masalah kebutuhan pakan, yang mana ketersedian pakan khususnya untuk unggas harganya dipasaran sering berfluktuasi. Biaya pakan merupakan biaya tertinggi dibandingkan dengan biaya produksi lainnya. Menurut (Murtidjo,1987), biaya pakan dalam usaha peternakan mencapai 60-70% dari seluruh biaya produksi. Untuk menyiasati hal ini, harus dicarikan upaya alternatif terhadap jenis bahan pakan lain, yang mana dapat digunakan sebagai pakan ternak pengganti yang harganya murah, tidak bersaing dengan kebutuhan manusia, mudah didapat dan berkualitas baik. Pemanfaatan limbah organik hasil pertanian bisa dijadikan sebagai salah satu solusi yang tepat dalam permasalahan ini. Limbah pertanian yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan ternak salah satunya adalah onggok.

Onggok merupakan limbah padat agro industri berupa ampas dari pengolahan ubikayu menjadi tapioka yang di peroleh dari proses pemerasan dan penyaringan. Ketersediaan onggok terus meningkat sejalan dengan meningkatnya produksi tapioka. Hal ini diindikasikan dengan semakin luasnya area penanaman dan produksi ubikayu. Tercatat bahwa pada tahun 2004 produksi ubikayu adalah 15,5 ton/ha dan pada tahun 2007 produksi ubikayu meningkat menjadi 16,6 ton/ha (Badan Pusat Statistik, 2007). Menurut (Enie, 1989) melaporkan dari setiap ton ubikayu akan dihasilkan 250 kg tapioka dan 114 kg onggok. Dengan demikian, onggok ini merupakan sisa limbah industri tepung tapioka yang akan membusuk

jika tidak termanfaatkan, sehingga mengakibatkan pencemaran lingkungan hidup. Dengan menjadikan onggok sebagai pakan alternatif bagi kebutuhan konsumsi unggas, akan memiliki dampak baik untuk mengurangi masalah polutan yang akan disebabkan oleh onggok tersebut.

Onggok sebagai pakan ternak unggas belum bisa dimanfaatkan secara maksimal. Menurut (Nuraini *et al.*, 2006) penggunaan onggok dalam ransum broiler terbatas yaitu hanya bisa 6%, jika lebih dari level tersebut dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan. Kandungan zat makanan yang dimiliki onggok adalah protein kasar 1,88%, serat kasar 15,62%, lemak kasar 0,25%, abu 1,15%, Ca 0,31%, P 0,05% dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 81,10% (Wizna, 2008). Dilihat dari kandungan gizinya, onggok mempunyai kandungan protein kasar rendah dan serat kasar yang cukup tinggi, sehingga penggunaannya menjadi terbatas sebagai pakan ternak unggas.

Pakan yang memiliki kandungan serat kasar tinggi bersifat *voluminous* atau *bulky*, sehingga akan menyebabkan tembolok cepat penuh. Pakan seperti ini memiliki waktu transit dalam saluran pencernaan lebih lama, akibatnya ternak akan mengurangi konsumsi ransumnya, karena kapasitas saluran pencernaan yang terbatas. Hal ini akan memberikan efek yang buruk terhadap pertumbuhan ayam, karena secara fisiologi ternak kekurangan zat-zat makanan (Wahyu, 1992). Penggunaan serat kasar yang tinggi, selain dapat menurunkan komponen yang mudah dicerna juga menyebabkan penurunan aktivitas enzim pemecah zat-zat makanan, seperti enzim yang membantu pencernaan salah satunya protein (Parakasi, 1983; Tulung, 1987)

Oleh karena itu untuk memperbaiki kualitas gizi onggok diperlukan upaya untuk meningkatkan protein kasar dan menurunkan serat kasar yaitu melalui fermentasi dengan *Aspergillus niger*. Fermentasi merupakan proses perubahan kimiawi pada substrat organik melalui enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Winarno, 1980). Kandungan asam amino, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral bahan akan mengalami perubahan akibat aktivitas dan perkembangbiakan mikroorganisme selama fermentasi berlangsung (Pederson, 1971).

Aspergillus niger merupakan kapang yang cocok hidup pada substrat yang mengandung sumber pati tinggi, sehingga pati pada onggok dapat digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangan kapang tersebut. Pertumbuhan yang baik dari kapang diharapkan memproduksi enzim *celulase* dalam jumlah yang banyak sehingga dapat digunakan untuk merombak dan menurunkan serat kasar (Nurhayati *et al.*, 2011). Pemanfaatan kapang *Aspergillus niger* sebagai starter dalam proses fermentasi ini dirasa paling cocok dan sesuai dengan tujuan fermentasi, yaitu untuk menurunkan kadar serat dan sekaligus dapat meningkatkan kadar protein kasar onggok (Tampoebolon, 2009).

Berdasarkan uraian tersebut, maka diperlukan upaya penggunaan teknologi pengolahan pakan secara efektif agar bisa menghasilkan pakan berkualitas baik dengan harga terjangkau. Untuk itu dilakukan penelitian tentang level inokulum terbaik pada hasil fermentasi onggok menggunakan *Aspergillus niger* terhadap kualitas kandungan nutrisi pakan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Onggok

Onggok yang berasal dari ubi singkong merupakan limbah padat dari pengolahan tepung tapioka. Kandungan zat makanan yang terdapat pada onggok adalah protein 3,6%, lemak 2,3%, air 20,31% dan abu 4,4% (Anonimus, 2005). Onggok berpotensi sebagai pakan ternak karena mengandung karbohidrat atau pati yang masih cukup tinggi sehingga biasa dimanfaatkan sebagai sumber energi. Kandungan energi metabolismis onggok adalah 3000 kkal/kg, namun kandungan protein rendah dan sianidanya tinggi sekitar 1,75 mg/g (Abidin, 1997)

Onggok adalah limbah padat berupa ampas dari pengolahan ubikayu menjadi tapioka, yang apabila didiamkan dalam beberapa hari akan menimbulkan bau asam dan busuk yang bersifat mencemari lingkungan. Produksi ubikayu Indonesia menempati urutan ke 4 terbesar setelah Nigeria, Brazil dan Thailand. Pada tahun 2002, produksi ubi kayu Indonesia mencapai 16,9 juta ton dengan luas area 11,27 juta ha, yang sebagian besar diserap industri tapioka, sehingga setiap tahun tidak kurang dari 1,2 juta ton onggok dihasilkan (Anonimus, 2003).

Nutrien utama onggok adalah karbohidrat yaitu 60-70% (Tisnadjaja, 1996), dengan komponen utama berupa pati (Judoamidjojo *et al.*, 1992). Nutrien lain yang harus diperhitungkan apabila onggok digunakan sebagai bahan pakan unggas adalah tingginya serat kasar, rendahnya protein, rendahnya kecernaan (Puslitbangnak, 1996), dan adanya senyawa anti-nutrisi (Suliantari dan Rahayu, 1990).

Aspergillus niger

Berdasarkan klasifikasinya, jamur *Aspergillus niger* dapat dilihat sebagai berikut :

Domain	: <i>Eukaryota</i>
Kingdom	: <i>Fungi</i>
Phylum	: <i>Ascomycota</i>
Subphylum	: <i>Pezizomycotina</i>
Class	: <i>Eurotiomycetes</i>
Order	: <i>Eurotiales</i>
Family	: <i>Trichocomaceae</i>
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>A. Niger</i>

(Fadli, 2009)

Secara luas *Aspergillus* didefinisikan sebagai suatu kelompok nukosis penyebab dari fotogenosa yang bermacam-macam. *Aspergillus niger* termasuk ke dalam kelas Ascomycetes. Di dalam industri *Aspergillus niger* banyak dipakai dalam proses produksi asam nitra, sedangkan di dalam laboratorium spesies ini digunakan untuk mempelajari tentang metabolisme pada jamur dan kegiatan enzimatis. Pada penelitian ini digunakan *Aspergillus niger* karena spesies ini termasuk fungi berfilamen penghasil selulase dan *crude enzyme* secara komersial serta penanganannya mudah dan murah. Fungi-fungi tersebut sangat efisien dalam memproduksi selulase (Hidayat, 2016).

Aspergillus niger adalah anggota dari genus *Aspergillus* yang mencakup seperangkat jamur yang umumnya dianggap aseksual, meskipun bentuk sempurna

(bentuk yang bereproduksi secara seksual) telah ditemukan (Fadli, 2009). *Aspergillus niger* umumnya ditemukan tumbuh sebagai saprofit pada daun mati, gandum yang disimpan, tumpukan kompos, dan vegetasi yang membusuk lainnya. Spora tersebar luas, dan sering dikaitkan dengan bahan organik dan tanah (Dewanto, 2012).

Penggunaan utama dari *Aspergillus niger* adalah untuk produksi enzim dan asam organik dengan cara fermentasi (Dewanto, 2012). *Aspergillus niger* mampu memproduksi enzim selulase, xilanase, β -glukanase, dan protease yang aktif dalam kondisi asam dan netral (Tapingkae *et al.*, 2007).

Fermentasi

Fermentasi diartikan sebagai semua aksi mikroba yang menghasilkan energi, yang dalam reaksi oksidasi-reduksi menggunakan senyawa organik sebagai donor dan akseptor elektron (Sa'id, 1987). Fermentasi adalah Proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen) maupun aerob. Secara umum, Fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobic dengan tanpa akseptor elektron eksternal (Dirmanto, 2006).

Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan (Winarno, 1980). Pada umumnya cara-cara pengawetan pangan ditujukan untuk menghambat atau membunuh mikroba

sebaliknya, fermentasi adalah suatu cara pengawetan yang mempergunakan mikroba tertentu untuk menghasilkan asam atau komponen lainnya yang dapat menghambat mikroba perusak lainnya. Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau partial anaerobik dari karbohidrat dan menghasilkan alkohol serta beberapa asam. Namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak (Rahman, 1989).

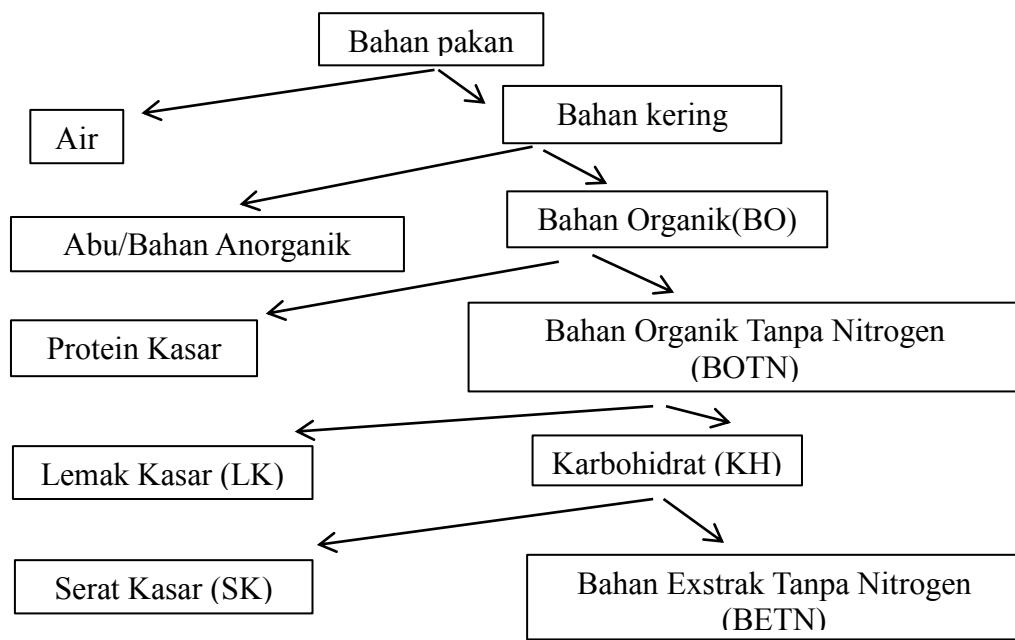
Hasil dari fermentasi terutama tergantung pada berbagai faktor yaitu jenis bahan pangan (substrat), macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. Mikroba yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunan-turunannya terutama menjadi alkohol, asam dan CO₂.

Prinsip fermentasi sebenarnya adalah mengaktifkan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba pembentuk alkohol dan asam, dan menekan pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik. Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi adalah substrat (medium), suhu, pH (keasaman), oksigen, jumlah mikroba, alkohol, garam dan air.

Analisis Proksimat

Analisa proksimat merupakan uji analisa suatu bahan pakan yang telah lama ada dan dapat digunakan untuk menduga nilai nutrien dan nilai energi dari bahan atau campuran pakan (Amrullah, 2004). Analisis proksimat dilakukan menggunakan metode Wendee yang meliputi kadar air (KA), kadar abu (KAb), protein kasar (PK), lemak kasar (LK), serat kasar (SK) dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) (Fachrudin, 2012). Metode ini tidak menguraikan kandungan

nutrien secara rinci namun berupa nilai perkiraan sehingga disebut analisis proksimat.



Gambar 1. Bagan Fraksi Analis Proksimat (Fachrudin, 2012)

Kadar Air

Kadar air adalah persentase kandungan air suatu bahan yang dapat dinyatakan berdasarkan berat basah (wet basis) atau berat kering (dry basis). Metode pengeringan melalui oven sangat memuaskan untuk sebagian besar makanan, akan tetapi beberapa makanan seperti silase, banyak sekali bahan-bahan atsiri (bahan yang mudah terbang) yang bisa hilang pada pemanasan tersebut (Winarno, 1997).

Abu

Jumlah abu dalam bahan pakan hanya penting untuk menentukan perhitungan bahan ekstrak tanpa nitrogen (Sutardi, 2009). Kandungan abu ditentukan dengan cara mengabukan atau membakar bahan pakan dalam tanur, pada suhu 4000°C sampai semua karbon hilang dari sampel, dengan suhu tinggi ini bahan organik yang ada dalam bahan pakan akan terbakar dan sisanya merupakan abu yang dianggap mewakili bagian inorganik makanan. Kandungan abu dengan demikian tidaklah sepenuhnya mewakili bahan inorganik pada makanan baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif (Anggorodi, 2005).

Protein Kasar

Protein tersusun atas satuan-satuan molekul asam amino saling berikatan yang disebut asam alfa amino. Setiap asam amino saling dihubungkan oleh suatu ikatan kovalen yang disebut ikatan peptida (Sumartini dan Kartasubrata, 1992). Kandungan N yang terdapat di dalam bahan pakan, tidak selalu berupa N protein, tetapi terdapat juga N untuk senyawa lain (Soejono, 1990). Kadar protein suatu bahan pakan secara umum dapat diperhitungkan dengan analisis kadar protein kasar. Analisis kadar protein ini merupakan usaha untuk mengetahui kadar protein bahan baku pakan. Analisis kadar protein digunakan untuk menguji kadar protein, ditentukan kadar nitrogennya secara kimiawi kemudian angka yang diperoleh dikalikan dengan faktor $6,25 = (100 : 16)$. Faktor tersebut digunakan sebab nitrogen mewakili sekitar 16% dari protein (Murtidjo, 1987).

Lemak Kasar

Lemak kasar adalah lemak yang diperoleh bukan dari lemak murni karena campuran beberapa zat-zat diantaranya klorofil,santofil, dan karoten. Lemak kasar ditentukan menggunakan alat soxhlet. Lemak kasar ini juga adalah zat yang tidak dapat larut dalam air akan tetapi dapat larut pada pelarut lemak seperti eter, kloroform, dan benzene (Khairul, 2009). Menurut (Buckle, 2005) menyatakan sifat-sifat lemak yaitu tidak larut dalam air dan lemak adalah campuran trigliserida dalam bentuk padat dan terdiri dari suatu fase padat dan fase cair.

Serat Kasar

Dalam arti umum serat kasar adalah semua senyawa organik yang terdapat di dalam pakan yang kecernaannya rendah, sedangkan dalam analisis proksimat yang dimaksud dengan serat kasar adalah semua senyawa organik yang tidak terlarut di dalam perebusan dengan larutan H_2SO_4 , 1,25% atau 0,255 N dan pada perebusan dengan larutan NaOH 1,25% atau 0,313 N yang berurutan masing-masing selama 30 menit. Residu hasil saringan apabila dibakar sempurna maka serat kasarnya akan menjadi gas CO_2 dan H_2O yang menguap sedangkan mineralnya akan menjadi abu atau campuran oksida mineral (Kamal, 1994).

Bahan Ekstrak Tanpa Titrogen (BETN)

Kandungan BETN suatu bahan pakan sangat tergantung pada komponen lainnya, seperti abu, protein kasar, serat kasar dan lemak kasar. Jika jumlah abu, protein kasar, esktrak eter dan serat kasar dikurangi dari 100, perbedaan itu

disebut bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) (Sutardi, 2009). BETN merupakan karbohidrat yang dapat larut meliputi monosakarida, disakarida dan polisakarida yang mudah larut dalam larutan asam dan basa serta memiliki daya cerna yang tinggi (Anggorodi, 1994).

Hipotesis

Kemampuan *Aspergillus niger* memproduksi enzim selulase dan asam organik dengan cara fermentasi onggok dengan level inokulum terbaik akan dapat meningkatkan kandungan nutrisi pakan tertinggi dari onggok secara kimiawi, sehingga daya cerna pada unggas akan meningkat apabila digunakan sebagai salah satu bahan pada ransum unggas.

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh level inokulum terbaik pada fermentasi onggok menggunakan *Aspergillus niger* yang dapat menghasilkan kualitas pakan terbaik secara kimiawi.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi peneliti, masyarakat dan kalangan akademik dalam mengelola dan memanfaatkan hasil samping pertanian (onggok) sebagai bahan ransum unggas dengan teknologi fermentasi.

BAB 4. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Dasar Nutrisi dan Laboratorium Kimia Universitas Mercu Buana Yogyakarta, dan dilaksanakan antara bulan April-Mei 2017.

Materi Penelitian

1. Bahan yang digunakan:

- a. Onggok
- b. Molase
- c. Urea
- d. Alkohol 70%
- e. Aquades
- f. *Aspergillus niger*
- g. Premix/mineral
- h. Media agar miring PDA (Potato Dextrose Agar)

2. Alat yang digunakan:

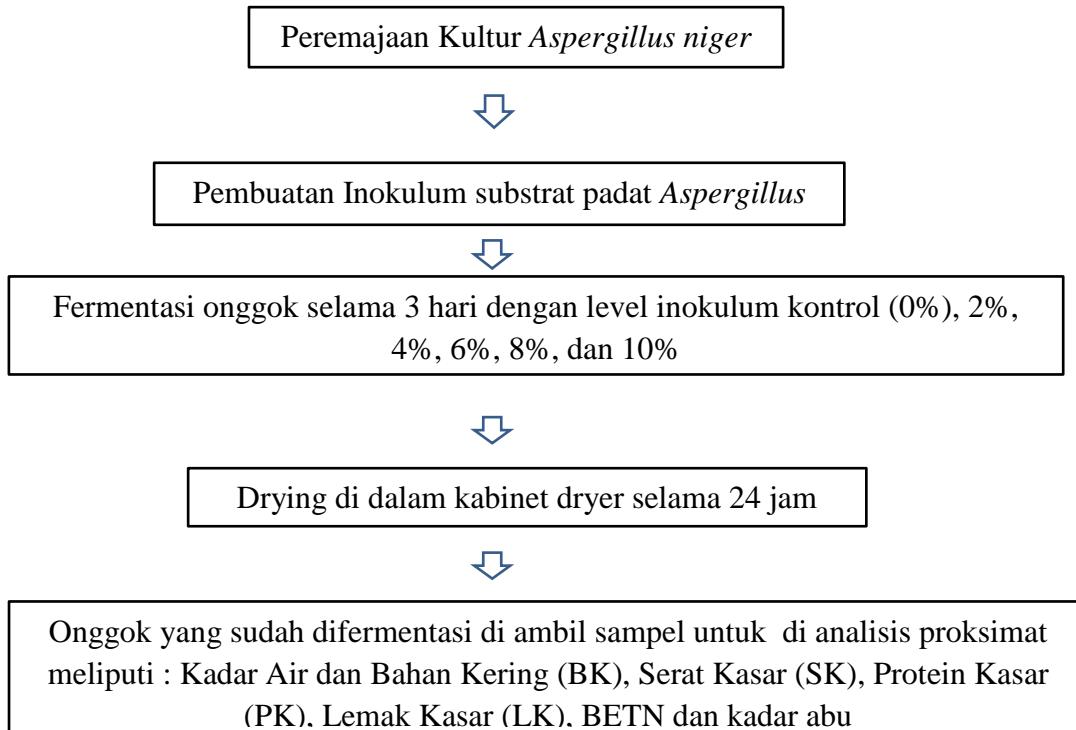
- a. Autoclave, berfungsi untuk mensterilkan alat dan bahan fermentasi. Sterilisasi bahan dilakukan pada suhu 121° C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

- b. Tabung reaksi, digunakan untuk perbanyakkan kapang dan membuat pengenceran.
- c. Pipet, digunakan untuk mengambil cairan yang ada dalam tabung.
- d. Beaker glass, digunakan sebagai alat ukur volume larutan dan homogenisasi media agar.
- e. Labu erlenmeyer, digunakan untuk pembuatan media agar.
- f. Cawan petri, digunakan untuk pemberian mikroba dari substrat.
- g. Jarum ose, digunakan untuk mengambil indukan kapang pada tabung reaksi.
- h. Pembakar bunsen, digunakan untuk mensterilkan jarum ose.
- i. Neraca analitik digital, neraca satorius dengan kepekaan 0,0001 gram digunakan untuk menimbang bahan yang dipergunakan dalam penelitian.
- j. Kantong plastik, digunakan untuk menyimpan substrat selama proses fermentasi.
- k. Kapas dan Aluminium foil, digunakan untuk menutup alat-alat pada saat akan dilakukan sterilisasi.
- l. Fermentor, digunakan sebagai tempat penyimpanan unit percobaan saat fermentasi.
- m. Refrigerator, digunakan untuk menyimpan biakan murni *Aspergillus niger*, disimpan pada suhu 5°C
- n. Blender, digunakan untuk menghaluskan inokulum dan produk fermentasi yang sudah kering.

- o. Oven/ Inkubator dengan suhu 60° C digunakan untuk pengeringan bahan dan produk fermentasi.
- p. Termometer, berfungsi untuk mengukur suhu substrat fermentasi.
- q. pH meter, digunakan untuk mengukur kadar pH substrat fermentasi.
- r. Alat pencatat, untuk mencatat hasil pengamatan pada penelitian
- s. Kompor elektrik
- t. Gelas ukur 10 ml, untuk menakar kebutuhan cairan yang dibutuhkan untuk proses fermentasi
- u. Kertas payung, ntuk membungkus substrat yang sudah diperlakukan sebelum dikeringkan ke dalam inkubator
- v. Perangkat analisis proksimat, digunakan untuk menganalisa nilai nutrien substrat dan produk fermentasi.
- w. Seperangkat unit analisis proksimat yang terdiri : alat ekstraksi, dari soxhlet, desikator, oven, vochdoo

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah secara eksperimen yang dilakukan di laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola searah dengan perlakuan pemberian level inokulum *Aspergillus niger* yang berbeda-beda pada fermentasi onggok yang kemudian dianalisa secara kimiawi (analisis proksimat) untuk mengetahui kandungan nutrisinya.



Gambar 2. Diagram Alir Metode Penelitian

Peremajaan Kultur *Aspergillus niger*

Menyiapkan tabung reaksi yang sudah disterilisasi, kemudian isi dengan larutan Potato Dextrose Agar (PDA) steril, tutup tabung dengan kain kasa, dan simpan tabung dalam posisi miring. Biakan murni *Aspergillus niger* diinokulasikan (dengan menggunakan jarum ose) ke dalam tabung reaksi yang berisi media Potato Dextrose Agar (PDA) steril, kemudian diinkubasikan pada suhu 35^oC selama 48 jam.

Pembuatan Inokulum Substrat Padat *Aspergillus niger*

1. Semua bahan (onggok, 1,14 % molase, 0,5% urea, 1,25% mineral, air bebas mineral s.d kadar 70%) disterilkan dengan autoclave pada suhu 120° C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
2. Setelah disterilkan, semua bahan (dedak kasar, 1,14 % molase, 0,5% urea, 1,25% mineral, air bebas mineral s.d kadar 70%) dicampur sampai homogen dengan biakan kapang *Aspergillus niger* yang telah dicampur dengan aquades.
3. Setelah semua bahan tercampur rata, selanjutnya diinkubasikan pada suhu 35° C selama 72 jam.
4. Substrat yang telah ditumbuhi kapang dikeringkan dalam oven pada suhu 60° C sampai bahan benar-benar kering, kemudian digiling sampai halus, selanjutnya digunakan sebagai inokulan.

Level inokulumnya adalah 0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%

Metode pembuatan inokulum *Aspergillus niger*

1. Semua bahan (Onggok, 1,14% molase, 0,5% urea, 1,25% mineral, air bebas mineral sampai dengan kadar 70%) disterilkan dengan autoclave pada suhu 121° C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
2. Setelah disterilkan semua bahan dicampur secara homogen dengan biakan kapang *Aspergillus niger* yang telah dicampur dengan aquades.
3. Setelah semua bahan tercampur rata selanjutnya di inkubasikan selama 72 jam pada suhu 35° C.

4. Substrat yang telah ditumbuhki kapang dikeringkan dalam oven pada suhu 60° C sampai bahan benar-benar kering kemudian digiling sampai halus, selanjutnya digunakan sebagai inoculan.
 - Level inoculumnya adalah 0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%

Fermentasi onggok

1. Sterilkan semua bahan dengan autoclave pada suhu 121° C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm
2. Setelah semua bahan steril, didinginkan sampai suhu 30-35°C
3. Mengukur kandungan bahan kering substrat
4. Setelah diketahui kandungan bahan kering onggok kemudian dihitung kebutuhan kadar air untuk proses fermentasi dan semua bahan dicampur sampai homogen.
5. Bahan yang sudah homogen dibagi menjadi 18 sampel (6 perlakuan dan 3 ulangan) kemudian di inoculasikan dengan *Aspergillus niger* dari dosis 0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%.
6. Dedak kasar yang sudah diinoculasikan dengan *Aspergillus niger* dimasukkan ke plastik mika yang sudah dilubangi atasnya untuk mendapatkan kondisi aerob.
7. Kemudian diinkubasikan selama 3 hari dalam tempat yang telah diberi sekat pada setiap perlakuan pada suhu 35°C
8. Setelah waktu inkubasi dicapai, onggok produk fermentasi ditimbang beratnya.

Analisis Kadar Abu

Prinsip kerjanya adalah membakar bahan dalam tanur/tungku (furnace) dengan suhu 600°C selama waktu tertentu (6 – 8 jam) sehingga seluruh unsur utama pembentuk senyawa organik (C, H, O, N) habis terbakar dan berubah menjadi gas, sisanya adalah abu (berwarna dari putih sampai abu-abu) yang merupakan kumpulan dari mineral-mineral dengan perkataan lain bahwa abu adalah total mineral dalam bahan makanan. Menurut (Darsudi, 2008) prosedur kerjanya adalah sebagai berikut :

- a. Panaskan cawan porselin kosong dalam tanur pengabuan suhu 600°C selama 2 jam, kemudian turunkan suhu tanur hingga 110°C
- b. Angkat cawan porselin kosong dalam tanur, dinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu timbang (A).
- c. Masukan kedalam cawan porselin berisi sampel dalam tanur suhu 600°C selama minimal 3-4 jam, kemudian turunkan suhu tanur menjadi 110°C (C).
- d. Angkat sampel dan dinginkan selama 30 menit didalam desikator dan ditimbang.

Hitung dengan rumus, Kadar Abu (%) :

$$\text{Kadar Abu} = \frac{(C-A)}{B} \times 100\%(2)$$

Keterangan :

B = bobot sampel sebelum diabukan (gram)

C = bobot sampel + cawan sesudah diabukan (gram)

A = bobot cawan kosong

Analisis Protein Kasar

Prinsip kerjanya adalah penetapan nilai protein kasar dilakukan secara tidak langsung, karena analisis ini didasarkan pada penentuan kandungan nitrogen yang terdapat dalam bahan. kandungan nitrogen yang diperoleh dikalikan dengan 6,25 sebagai angka konversi nilai nitrogen menjadi nilai protein. nilai 6,25 diperoleh dari asumsi bahwa protein mengandung 16 % nitrogen (perbandingan protein:nitrogen = 100:16 = 6,25:1). Menurut (Darsudi, 2008) prosedur kerja dari analisa kadar protein adalah :

- a. Timbang 0,3 gram sampel kering yang sudah dihaluskan masukanlah ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 1,5 ml katalisator, 1 ml H₂O₂ dan 10 ml H₂SO₄ pekat,
- b. Panaskan secara perlahan hingga suhu 425° C pada unit alat destruksi dalam ruang asam sehingga cairan jernih, kemudian dinginkan.
- c. Tambahkan 25 ml aquades secara perlahan
- d. Hubungkan tabung destruksi dengan perangkat alat destilasi, tambah larutan NaOH 40 % secara otomatis. Lakukan destilasi selama 4 menit hingga diperoleh destilat + 125 ml asam borat 4 %.
- e. Titrasi dengan larutan HCL 0,2 N hingga warna berubah dari hijau menjadi merah muda atau jingga.

Dihitung dengan rumus, Kadar Nitrogen (%) ;

$$KN = \frac{14,01 \times N \text{ titran} \times 100}{mg \text{ sampel}} \times 100 \%(3)$$

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \% \text{ Nitrogen} \times \text{angka Faktor}(4)$$

Analisis Lemak Kasar

Melarutkan lemak yang terdapat didalam bahan dengan pelarut lemak (ekstraksi) selama beberapa waktu 3 – 8 jam. Ekstraksi menggunakan alat sokhlet (gold fish). Beberapa pelarut yang digunakan adalah: kloroform, petroleum benzena, aseton, dan heksan.

Lemak yang terekstaksi (larut dalam pelarut) terakumulasi dalam wadah pelarut (labu sokhlet/gelas gold fish). Kemudian dipisahkan dari pelarut dengan cara dipanaskan dalam oven dengan temperatur 105° C. Pelarut akan menguap karena titik didihnya rendah / dibawah 80° C maka untuk mendapatkan berat lemak tinggal ditimbang lemak yang tinggal didalam wadah. Menurut (Khopkar, 1980). Cara kerja pengukuran lemak kasar :

1. Menyiapkan kertas saring yang telah kering oven (gunakan kertas saring bebas lemak)
2. Membuat selongsong penyaring yang dibuat dari kertas saring, timbang, dan catat beratnya sebagai A gram. Memasukkan sampel sekitar 2–5 gram dalam selongsong kemudian timbang dan catat beratnya sebagai C gram B gram.
Berat sampel = (B-A) gram
3. Selongsong penyaring berisi sampel dimasukkan ke dalam alat sokhlet. Memasukkan pelarut lemak (kloroform) sebanyak 100-200 ml ke dalam labu didihnya. Lakukan ekstraksi (nyalakan pemanas hot plate dan alirkan air pada bagian kondensornya)

- c. Sampel masukan kedalam gelas beaker ukuran 600 ml, dan tambahkan 200 ml asam sulfat 1,25%, di didihkan selama 30 menit
- d. Sampel disaring menggunakan corong pengisap bouchner (pakai linnen) dengan kertas saring
- e. Cuci sampel dengan air suling panas sampai bebas dari asam
- f. Masukan kembali sampel kedalam gelas beaker tambahkan 200 ml Natrium Hidroksida 1,25%, di didihkan selama 30 menit
- g. Saring kembali melalui corong pengisap buchner cuci dengan air suling panas sampai bebas alkali (cek dengan kertas lakkmus) kemudian dicuci dengan etanol 15 ml.
- h. Masukan residu dan kertas saring kedalam cawan yang sudah diketahui beratnya.
- i. Kemudian keringkan residunya dalam oven pada suhu 100-105⁰C selama sekitar 2 jam dan di dinginkan di desikator kemudian ditimbang (B0).
- j. Kemudian residunya masukan kedalam tanur dan abukan pada suhu 500-600⁰C selama 1 jam.
- k. Didinginkan dalam desikator dan kemudian ditimbang (B1).

Dihitung dengan rumus, Kadar Serat Kasar (%) :

$$\text{Kadar serat kasar (g/100g)} = \frac{B_2 - B_1}{B_0} \times 100\%(6)$$

Keterangan :

B2 = berat sampel.

B1 = berat abu.

B0 = berat abu yang tidak larut dalam basa.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) atau *Completely Randomized Design* (CRD) pola searah yaitu dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan. Adapun pelaksanaan nya adalah sebagai berikut :

P_1 = tanpa inokulum

P_2 = dengan inokulum *Aspergillus niger* 2 %

P_3 = dengan inokulum *Aspergillus niger* 4 %

P_4 = dengan inokulum *Aspergillus niger* 6 %

P_5 = dengan inokulum *Aspergillus niger* 8 %

P_6 = dengan inokulum *Aspergillus niger* 10 %

Variable yang diukur adalah kualitas kimia (Kadar air dan BK, PK, LK dan SK). Data yang diperoleh dengan *analysis of variant* (ANOVA) dan dilanjutkan uji beda mean *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) jika perlakuan menunjukan perbedaan yang signifikan (Astuti, 2007).

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Hasil penelitian dan Pembahasan

Onggok merupakan limbah padat agro industri pengolahan bahan ubi kayu menjadi tepung tapioka. Ketersediaan onggok yang melimpah merupakan salah satu faktor menjadikan onggok sebagai pakan alternatif, namun onggok memiliki kandungan protein kasar yang rendah. Selama ini onggok digunakan sebagai pakan sumber energi, onggok mengandung karbohidrat yang tinggi. Tingginya kandungan karbohidrat onggok dapat dilihat dari nilai serat kasar dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN).

Analisa kandungan nutrien (analisis proksimat) pada onggok yang difermentasi perlu dilakukan untuk mengetahui berapa jumlah zat makanan yang dihasilkan. Zat makanan adalah komponen bahan makanan yang dapat dicerna, diserap serta dimanfaatkan bagi tubuh. Penambahan berbagai level inokulum *Aspergillus niger* memberikan pengaruh terhadap kandungan nutriennya. Ada enam (6) jenis kandungan nutrien yang dikenal yaitu air, karbohidrat, protein kasar, lemak, vitamin, dan mineral.

Data kandungan nutrien onggok yang difermentasi dengan *Aspergillus niger* pada berbagai level inokulum disajikan pada tabel-tabel berikut ini :

Kadar Air

Banyaknya kadar air dalam suatu bahan pakan dapat diketahui apabila bahan pakan dipanaskan pada suhu 105⁰C. Bahan kering dihitung sebagai selisih

antara 100% dengan presentase kadar air suatu bahan pakan yang dipanaskan hingga ukurannya tetap (Anggorodi, 2005). Rerata kadar air onggok terfermentasi oleh *Aspergillus niger* pada berbagai level inokulum adalah berturut-turut P1: 6,85%; P2: 5,64%; P3: 5,93%; P4: 7,14%; P5: 6,62% dan P6: 5,47%. Data selengkapnya dapat di lihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Kadar air onggok fermentasi (%)

Ulangan	Perlakuan level inokulum <i>Aspergillus niger</i>					
	P1 (0%)	P2 (2%)	P3 (4%)	P4 (6%)	P5 (8%)	P6 (10%)
I	5,83	5,84	6,24	8,31	6,68	5,57
II	7,69	6,03	5,71	6,27	6,45	5,96
III	7,02	5,04	5,84	6,85	6,74	4,88
Rerata*	6,85 ^{bc}	5,64 ^{ab}	5,93 ^{abc}	7,14 ^c	6,62 ^{abc}	5,47 ^a

Keterangan : *rerata dengan superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

Rerata kadar air onggok terfermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan onggok yang dfermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 6% (P4) yaitu sebesar 7,14% dan terendah diperoleh pada perlakuan onggok yang dfermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 10% (P6) yaitu sebesar 5,47%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa penggunaan berbagai level inokulum *Aspergillus niger* berpengaruh nyata ($P<0,05$) pada fermentasi onggok dengan *Aspergillus niger* (Lampiran 1) selanjutnya hasil uji wilayah berganda Duncan, menunjukkan perlakuan P2, P3, P5 P6 berbeda tidak nyata ($P>0,05$) secara statistik, tetapi berbeda nyata ($P<0,05$) dengan P1, P4 (Lampiran 1). Pada level inokulum *Aspergillus niger* teroptimal yaitu 10% (P6) mampu menurunkan kadar air sebanyak 1.38% dari perlakuan 0% (P1). Pada penelitian ini kandungan air menurun ketika fermentasi diberi perlakuan inokulum *Aspergillus niger* dengan

berbagai level meskipun besarnya penurunan kadar air tidak berurutan sesuai dengan kenaikan levelnya. Perubahan kadar air ongok setelah fermentasi dapat dikarenakan adanya proses perombakan senyawa secara kimia yang terjadi selama proses fermentasi akibat aktivitas enzim yang dihasilkan *Aspergillus niger* sehingga terjadi perubahan kadar air pada substrat.

Penurunan kadar air ini bisa dipengaruhi masa inkubasi yang optimal (3 hari) sehingga pertumbuhan kapang berada pada fase eksponensial yang mengalami perbanyakkan jumlah sel dan aktivitas sel meningkat sehingga terjadi perubahan kandungan gizi yang tidak teratur. Pertumbuhan yang terjadi pada *Aspergillus niger* juga didukung dari adanya asupan nutrien tambahan saat proses pembuatan inokulum padat seperti mineral, molase, dan urea sehingga dihasilkan produk fermentasi yang sama banyak. Kadar air selama proses fermentasi mengalami perombakan menjadi energi untuk pertumbuhan *Aspergillus niger*.

Thanh dan Wu (1976) menyatakan bahwa pertumbuhan kapang yang maksimal perlu ditunjang dengan kandungan nutrien dasar yang merupakan sumber karbon, nitrogen, energi adenosin tri posfat (ATP), karbondioksida (CO_2), air (H_2O), mineral dan vitamin. Perubahan kadar air terjadi akibat evaporasi, hidrolisis substrat atau produksi air metabolik (Gervais, 2008). Penurunan kadar air karena kehilangan bobot kadar air dapat mengindikasikan bahwa pertumbuhan *Aspergillus niger* optimal.

Kadar Abu

Kandungan abu dalam bahan makanan mencerminkan kandungan mineralnya, walaupun nilai abu tidak dapat dipakai sebagai indeks untuk menentukan jumlah unsur-unsurnya. Kandungan abu ditentukan dengan cara mengabukan atau membakar bahan pakan dalam tanur, pada suhu $400^{\circ}\text{C} - 600^{\circ}\text{C}$ bahan organik dan karbon yang ada dalam bahan pakan akan terbakar, sisanya merupakan abu yang diduga mewakili bagian anorganik makanan. Rerata kadar abu onggok terfermentasi oleh *Aspergillus niger* pada berbagai level inokulum adalah berturut-turut P1: 7,03%; P2: 7,00%; P3: 6,97%; P4: 7,71%; P5: 8,30% dan P6: 7,02%. Data selengkapnya dapat di lihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Kadar abu onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering

Ulangan	Perlakuan level inokulum <i>Aspergillus niger</i>					
	P1(0%)	P2 (2%)	P3 (4%)	P4 (6%)	P5 (8%)	P6 (10%)
I	7,55	7,46	7,06	8,01	8,52	7,16
II	6,55	6,54	6,77	7,27	8,37	7,08
III	7,00	7,02	7,08	7,83	8,01	6,82
Rerata*	7,03 ^a	7,00 ^a	6,97 ^a	7,71 ^b	8,30 ^b	7,02 ^a

Keterangan : *rerata dengan superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

Rerata kadar abu onggok terfermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan onggok yang difерентasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 8% (P5) yaitu sebesar 8,30% dan terendah diperoleh pada perlakuan onggok yang difерентasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 4% (P3) yaitu sebesar 6,97%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa penggunaan berbagai level inokulum *Aspergillus niger* berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kadar abu pada fermentasi onggok dengan *Aspergillus niger*, selanjutnya hasil uji wilayah berganda Duncan

menunjukkan perlakuan P1, P2, P3, P6 berbeda tidak nyata ($P>0,05$) secara statistik, tetapi berbeda nyata ($P<0,05$) dengan P4, P5 (Lampiran 1). Pada perlakuan level inokulum *Aspergillus niger* 6% (P4) sudah mampu menaikkan kadar abu sebanyak 0,68%, dari perlakuan 0% (P1) namun level inokulum *Aspergillus niger* teroptimal berada pada level 8% (P5) mampu menaikkan 1,27% dari perlakuan 0% (P1).

Pada penelitian ini kadar abu mengalami peningkatan diduga disebabkan oleh adanya penambahan mineral untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* (Surisdiarto, 2003) sehingga memperoleh hasil yang optimal. Jumlah kapang *Aspergillus niger* yang banyak menyebabkan produksi enzim dari kapang semakin tinggi, sehingga jumlah zat-zat organik yang dirombak juga semakin banyak. Semakin lama waktu (3 hari) inkubasi proses fermentasi maka akan meningkatkan kandungan abu substrat hasil fermentasi.

Kadar abu pada pakan menunjukkan indikator besarnya kandungan untuk mineral yang terdapat dalam pakan (Dani *et al.*, 2005). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Sudarmadji (2003) bahwa kadar abu dipengaruhi oleh mineral – mineral yang terkandung di dalam bahan pangan tersebut. Mineral yang terdapat dalam suatu bahan pakan mengandung dua jenis mineral yaitu garam organik (asam malat, oksalat) dan garam anorganik (fosfat, karbonat) (Sudarmadji, 1984). Mineral yang terdapat pada abu dapat juga berasal dari senyawa organik misalnya fosfor yang berasal dari protein. Mineral yang dapat menguap sewaktu pembakaran adalah Na (Natrium), Cl (Clor), F (Fosfor), S (Belerang), oleh karena itu abu tidak dapat untuk menunjukkan adanya zat anorganik di dalam pakan

secara tepat baik secara kualitas maupun kuantitatif. Penetuan kadar abu berguna untuk menentukan kadar ekstrak tanpa nitrogen. Disamping itu kadar abu dari pakan yang berasal dari hewan dan ikan dapat digunakan sebagai indek untuk kadar Ca (Kalsium) dan P (Fofstor), juga merupakan tahap awal penentuan berbagai mineral yang lain (Kamal, 1994).

Protein Kasar

Protein mikroba dikenal dengan sebutan *Singe Cell Protein* (SCP) atau Protein Sel Tunggal (Yudhistira *et al.*, 2015). Protein Sel Tunggal adalah istilah yang digunakan untuk protein kasar atau murni yang berasal dari mikrorganisme, seperti bakteri, khamir, kapang, ganggang, dan protozoa. Menurut Scott *et al.* (1982), protein dibutuhkan oleh unggas yang sedang tumbuh untuk hidup pokok, pertumbuhan bulu dan pertumbuhan jaringan, oleh karena upaya fermentasi dilakukan agar suatu bahan pakan yang sebelumnya berkualitas rendah dapat memiliki peningkatan kadar protein yang tinggi. Rerata kadar protein onggok terfermentasi oleh *Aspergillus niger* pada berbagai level inokulum adalah berturut-turut P1: 8,69%; P2: 9,89%; P3: 8,92%; P4: 10,35%; P5: 11,19% dan P6: 11,28%. Data selengkapnya dapat di lihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Kadar protein kasar onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering

Ulangan	Perlakuan level inokulum <i>Aspergillus niger</i>					
	P1 (0%)	P2 (2%)	P3 (4%)	P4 (6%)	P5 (8%)	P6 (10%)
I	8,95	8,33	9,62	10,51	11,97	11,02
II	8,41	10,74	8,91	10,26	10,18	12,53
III	8,69	10,61	8,23	10,28	11,42	10,29
Rerata*	8,69 ^a	9,89 ^{ab}	8,92 ^a	10,35 ^{ab}	11,19 ^b	11,28 ^b

Keterangan : *rerata dengan superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$).

Rerata kadar protein onggok terfermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan onggok yang dfermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 10% (P6) yaitu sebesar 11,28% dan terendah diperoleh pada perlakuan onggok yang difermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 0% (P1) yaitu sebesar 8,69%. Hasil analisis variansi menunjukan bahwa penggunaan berbagai inokulum berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kadar protein kasar pada fermentasi onggok dengan *Aspergillus niger*, selanjutnya hasil uji wilayah berganda Duncan menunjukkan perlakuan P1, P2, P3, P4 berbeda tidak nyata ($P>0,05$) secara statistik, tetapi berbeda nyata ($P<0,05$) dengan perlakuan P5, P6 (Lampiran 1). Pada level inokulum *Aspergillus niger* 8% (P5) sudah mampu menaikkan kadar protein kasar sebanyak 2,5% dari perlakuan 0% (P1) namun level inokulum *Aspergillus niger* teroptimal berada pada level 10% (P6) mampu menaikkan sebanyak 2,59% dari perlakuan 0% (P1).

Pada penelitian ini kadar protein kasar mengalami peningkatan diduga disebabkan oleh pertumbuhan *Aspergillus niger* yang optimal pada proses fermentasi dengan aktifitas enzim yang dihasilkan kapang *Aspergillus niger* seperti selulase dapat melepaskan protein yang terikat pada lignin. *Aspergillus niger* juga merupakan kapang fotosintetik merupakan salah satu penyebab meningkatnya kandungan protein kasar onggok yang difermentasi. Kapang fotosintetik yang mampu menghasilkan asam-asam amino. Dugaan lain adanya kemampuan *Aspergillus niger* untuk mengubah nitrogen bukan protein menjadi protein dan penambahan urea sebagai sumber nitrogen yang dibutuhkan dalam pertumbuhan sel, produksi enzim serta sintesis protein dapat tercukupi (Sinurat, 1996 sitasi Rosningsih, 2011).

Peningkatan kandungan protein yang sejalan dengan pertumbuhan *Aspergillus niger* dikarenakan tubuh kapang terdiri dari elemen yang mengandung nitrogen, selain itu enzim yang dihasilkan oleh jamur juga merupakan protein (Noferdiman, 2008). Demikian juga pernyataan Akin (1996), bahwa bakteri dan jamur dapat menghasilkan enzim yang memiliki aktivitas dalam melonggarkan ikatan ligno-selulosa dan ligno-hemiselulosa, sehingga protein yang terikat pada lignin akan terlepas. Menurut Yudhistira *et al.* (2015), terjadinya peningkatan kadar protein juga dapat dikarenakan adanya jumlah biomassa *Aspergillus niger* yang semakin tinggi, dimana sebagian besar selnya merupakan protein (*Single Cell Protein*). Protein dalam jumlah yang optimal dapat dijadikan sebagai sumber energi utama, untuk perbaikan jaringan yang rusak, dan untuk pertumbuhan sehingga kandungan protein sangat dibutuhkan dalam pakan.

Lemak Kasar

Lemak adalah kelompok senyawa heterogen yang masih berkaitan, baik secara aktual maupun potensial dengan asam lemak. Lemak mempunyai sifat umum yang relatif tidak larut dalam air dan larut dalam pelarut non polar seperti eter, kloroform dan benzena. Lemak berfungsi sebagai sumber energi yang efisien secara langsung dan secara potensial bila disimpan dalam jaringan adipose, lemak juga berfungsi sebagai pelarut yang membantu dalam penyerapan vitamin yang larut dalam lemak. Rerata kadar lemak kasar onggok terfermentasi oleh *Aspergillus niger* pada berbagai level inokulum adalah berturut-turut P1: 1,53%; P2: 1,12%; P3: 1,19%; P4: 1,00%; P5: 0,88% dan P6: 0,27%. Data selengkapnya dapat di lihat pada Tabel 5.

Tabel 4. Kadar lemak kasar onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering

Ulangan	Perlakuan level inokulum <i>Aspergillus niger</i>					
	P1 (0%)	P2 (2%)	P3 (4%)	P4 (6%)	P5 (8%)	P6 (10%)
I	1,82	0,52	1,20	0,92	0,84	0,34
II	0,89	1,66	1,34	1,15	0,76	0,25
III	1,88	1,18	1,04	0,93	1,04	0,21
Rerata*	1,53 ^b	1,12 ^b	1,19 ^b	1,00 ^b	0,88 ^b	0,27 ^a

Keterangan : *rerata dengan superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

Rerata kadar lemak kasar onggok terfermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan onggok yang dfermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 0% (P1) yaitu sebesar 1,53% dan terendah diperoleh pada perlakuan onggok yang difermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 10% (P6) yaitu sebesar 0,27%. Hasil analisis variansi menunjukan bahwa penggunaan berbagai inokulum berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kadar lemak pada fermentasi onggok dengan *Aspergillus niger*, selanjutnya hasil uji wilayah berganda Duncan menunjukkan perlakuan P1, P2, P3, P4, P5, berbeda nyata ($P<0,05$) dengan perlakuan P6 (Lampiran 1). Pada level inokulum *Aspergillus niger* 8% (P5) sudah mampu menurunkan kadar lemak kasar sebanyak 0,65% dari perlakuan 0% (P1) namun level inokulum *Aspergillus niger* teroptimal berada pada level 10% (P6) mampu menurunkan sebanyak 1,26% dari perlakuan 0% (P1).

Hasil penelitian menunjukkan kadar lemak mengalami penurunan disebabkan kehilangan bahan kering selama proses fermentasi berlangsung, adanya pertumbuhan dan perkembangan kapang untuk membentuk massa sel yang mengandung lemak. Kapang merupakan mikroorganisme *oleaginous* yang paling tepat untuk menghasilkan lemak dibandingkan dengan bakteri dan khamir. Hal ini

disebabkan karena kapang lebih mudah ditangani, dapat tumbuh pada kisaran pH yang rendah, dapat mendegradasi sumber karbon (C) yang kompleks dan mampu tumbuh cepat pada limbah serta dapat menghasilkan berbagai asam lemak (Sumanti *et al.*, 2009). Kadar lemak yang tersedia pada onggok dipergunakan oleh kapang untuk menjadi sumber energi pertumbuhan kapang. Energi untuk pertumbuhan kapang dapat berasal dari karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan zat lain pada substrat (onggok).

Substrat terfermentasi oleh *Aspergillus niger* menghasilkan enzim lipase mampu merombak lemak untuk digunakan sebagai energi pertumbuhan kapang. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian (Kusumaningrum *et al.*, 2012) yaitu terjadi penurunan kadar lemak kasar pada ransum hasil fermentasi dikarenakan substrat yang digunakan mengandung glukosa sehingga dapat memacu pertumbuhan biomassa kapang yang mengakibatkan produksi enzim lipase juga semakin banyak untuk merombak lemak kasar. Enzim lipase yang dihasilkan *Aspergillus niger* dapat memecah lemak menjadi asam lemak dan gliserol, digunakan sebagai sumber energi untuk proses pertumbuhannya. Pakan yang banyak mengandung lemak tidak baik bagi kesehatan ternak karena akan lebih mudah teroksidasi dan menghasilkan bau yang tidak enak (Mahyuddin, 2008).

Serat Kasar

Serat kasar merupakan bagian dari karbohidrat. Pada pakan sebagian besar serat kasar yang terdapat dalamnya, tidak dapat dicerna pada ternak non unggas namun dapat dicerna pada ternak unggas. Sebagian besar serat kasar berasal dari

sel dinding tanaman dan mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin. Kapang *Aspergillus niger* menghasilkan produk enzim yang dapat mendegradasi serat kasar. Adanya perubahan pada kadar serat kasar setelah fermentasi mengindikasikan produksi enzim dan pertumbuhan kapang juga berpengaruh pada serat kasar onggok yang difermentasi. Rerata kadar serat kasar onggok terfermentasi oleh *Aspergillus niger* pada berbagai level inokulum adalah berturut turut P1: 32,05%; P2: 14,74%; P3: 13,06%; P4: 12,62%; P5: 12,31% dan P6: 12,27%. Data selengkapnya dapat di lihat pada Tabel 6.

Tabel 5. Kadar serat kasar onggok fermentasi dalam 93,72 % berat kering

Ulangan	Perlakuan level inokulum <i>Aspergillus niger</i>					
	P1 (0%)	P2 (2%)	P3 (4%)	P4 (6%)	P5 (8%)	P6 (10%)
I	47,89	15,01	14,65	13,73	10,30	12,42
II	35,17	16,40	14,01	12,19	13,23	13,88
III	13,09	12,83	10,53	11,93	13,40	10,49
Rerata*	32,05 ^b	14,74 ^a	13,06 ^a	12,62 ^a	12,31 ^a	12,27 ^a

Keterangan : *rerata dengan superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

Rerata kadar serat kasar onggok terfermentasi tertinggi diperoleh pada perlakuan onggok yang difermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 0% (P1) yaitu sebesar 32,05% dan terendah diperoleh pada perlakuan onggok yang difermentasi dengan level inokulum *Aspergillus niger* 10% (P6) yaitu sebesar 12,27%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa penggunaan berbagai inokulum berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kadar serat kasar pada fermentasi onggok dengan *Aspergillus niger*, selanjutnya hasil uji wilayah berganda Duncan menunjukkan perlakuan P2, P3, P4, P5, P6 berbeda nyata ($P<0,05$) dengan perlakuan P6 (Lampiran 1). Pada level inokulum *Aspergillus niger* 8% (P5) sudah

mampu menurunkan kadar serat kasar sebanyak 19,74% dari perlakuan 0% (P1) namun level inokulum *Aspergillus niger* teroptimal berada pada level 10% (P6) mampu menurunkan sebanyak 19,78% dari perlakuan 0% (P1).

Hasil penelitian menunjukkan kadar serat kasar mengalami penurunan disebabkan *Aspergillus niger* selama fermentasi menghasilkan enzim selulase yang dapat mendegradasikan serat. Pertumbuhan yang baik dari kapang diharapkan memproduksi enzim *selulase* dalam jumlah yang banyak sehingga dapat digunakan untuk merombak dan menurunkan serat kasar (Nurhayati *et al.*, 2014). Pemanfaatan kapang *Aspergillus niger* sebagai starter dalam proses fermentasi ini dirasa paling cocok dan sesuai dengan tujuan fermentasi, yaitu untuk menurunkan kadar serat dan sekaligus dapat meningkatkan kadar protein kasar dedak padi kasar (Tampoebolon, 2009). Hal ini didukung hasil penelitian (Suparjo *et al.*, 2003) pada onggok yang difermentasi dengan *Aspergillus niger* dengan lama pemeraman 72 jam, menunjukkan adanya peningkatan protein kasar dan penurunan serat kasar.

Teknologi biofermentasi dengan menggunakan kapang merupakan suatu alternatif karena selain dengan melonggarkan ikatan atom hidrogen selulosa dan melonggarkan ikatan lignoselulosa dengan bantuan enzim selulase yang dihasilkan kapang sehingga pakan berserat juga mampu menghilangkan senyawa beracun dalam bahan (Jamatur *et al.*, 2000). *Aspergillus niger* mampu memecah selulosa selama proses fermentasi menjadi glukosa, yang mana enzim selulase merupakan enzim kompleks yang bekerja secara bertahap untuk memecah selulosa menjadi glukosa.

BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa level inokulum *Aspergillus niger* yang paling optimal untuk memfermentasi onggok yaitu 10%, dapat meningkatkan kadar protein kasar sebesar 2,59% dan menurunkan kadar serat kasar sebesar 19,78%.

Saran

Untuk penggunaan onggok fermentasi sebagai pakan unggas disarankan menggunakan penambahan inokulum *Aspergillus niger* sebanyak 10%.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri, K. 2005. *Biokonversi Penangka* 41 Majalah Intisari, Jakarta
- Anggorodi, R. 2005. *Ilmu Makanan Ternak Umum*. Gadjah Mada University Press. Jogyakarta
- Anonimus. 2011. *Data komoditas produksi ubi kayu nasional*. www.deptan.go.id. (4 Februari 2011)
- Akin, D.E., L.L. Rigsby, Sethuraman, A. Morrison, Gamble, R. dan Eriksson. 1996. Alterations in structure, chemistry, and biodegradability of grass lignocelluloses treated with white rot fungi Ceriporiopsis sub vermispora and Cyathusstercoreus. *Appl. Environ.Microbiol.* 61, 1591 -1598
- AOAC. 2006 . *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Astuti, M. 2007. *Pengantar Ilmu Statistik Untuk Peternakan dan Kesehatan Hewan*. Cempaka Pertama. Bina Publisher. Bogor.
- Buckle, K. A., R. A Edward, G.H. Fleet, M. Wooton. 1985. *Ilmu Pangan*. Penerbit Universe – UI Press. Jakarta.
- Cappuccino,J. G. dan N. Sherman. 2000. *Microbiology: A Laboratory Manual*. The Benjamin/ Cummings Publishing Company,Inc. California.
- Dani, N.P., A. Budiharjo dan S. Listyawati. 2005. Komposisi Pakan Buatan untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Kandungan Protein Ikan Tawes (Puntius javanicus Blkr.). *Bio Smart*, 7 (2): 83-90.
- Dewanto, A. G. 2012. *Aspergillus niger*. <http://teknoganik.blogspot.com/2012/04/aspergillus-niger.html>. Akses Tanggal 17 September 2016.
- Dirmanto, 2006. *Concise Handbook of Indigenous Fermanted Foods in the ASCA Countries*. Indonesian Institute of Sciencies, Jakarta, Indonesia.
- Fadli. 2009. *Aspergillus niger Van Tieghem*. <http://linkfadliblog.blogspot.com/2009/04/aspergillusniger.html>. Akses Tanggal 17 September 2016.
- Gandjar, I., dan Wellyzar. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

- Gervais, P. 2008. *Water Relations in Solid State Fermentation*. In: A Pandey, C.R. Soccol, and C Larroche (Eds). *Current Developments in Solid-State Fermentation*. New Delhi: Asiatech Publisher Inc.
- Grace, M.R. 1997. *Cassava Processing*. FAO Plant Production and Protection Series. FAO-UN, Roma
- Hartadi, H., S. Reksohadiprodjo, S. Lebdosukojo, A.D. Tillman, L.C Kearl and L.E. Haris. 1980. *Tabel dari Komposisi Bahan Makanan Ternak untuk Indonesia*. IFI.USA
- Hendalia, E., Latief, A. dan Adrizal. 1998. Upaya Peningkatan Nilai Nutrisi Onggok Bioproses dengan Menggunakan Probiotik Starbio. *Jurnal Ilmu Peternakan*; Fakultas Peternakan Universitas Jambi
- Hidayat, N.M.C., dan Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Andi. Jakarta.
- Hidayat, C. 2010. *Mendongkrak Kecernaan Singkong*. <http://www.trobos.com>. (12 Januari 2012)
- Hidayat, M.N., H. Amriana, A. Khaerani. 2016. *Enzim Selulose yang dihasilkan Aspergillus niger pada Fermentasi Jerami*. <http://www.ilmuternak.com/2016/03/cara-fermntasi-jerami-padi-untuk-pakan-ternak.html>. Akses Tanggal 20 September 2016.
- Jamatun, N., Y. S. Nur., dan J. Rahman. 2000. *Biokonversi serat sawit dengan Aspergillus niger sebagai pakan ternak ruminansia*. Laporan Peneliti
- Kamal, M. 1994. *Nutrisi Ternak I*. Laboratorium Makanan Ternak, Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Khopkar, S.M. 1980. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Diterjemahkan oleh A.Saptorahardjo dan A. Nurhadi. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta
- Kompiang, I.P., A. P. Sinurat, S. Kompiang, S. Purwadaria and J. Dharma. 1994. Nutritional Value Of Protein Enriched Cassava-Casapro. *Ilmu Peternakan* 7: 22-25.
- Kusumaningrum. M, C. I. Sutrisno, dan B.W.H.E. Prasetyono. 2012. Kualitas kimia ransum sapi potong berbasis limbah pertanian dan hasil samping pertanian yang difermentasi dengan *Aspergillus niger*. *Animal Agriculture Journal*, Vol. 1. No. 2. 35-42
- Mahyuddin, K. 2008. *Panduan Lengkap Agribisnis Lele*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Noferdiman, Y. Rizal, Mirzah, Y. Heryandi, dan Y. Marlida. 2008. Penggunaan urea sebagai sumber nitrogen pada proses biodegradasi substrat lumpur sawit oleh jamur *Phanerochate chrysosporium*. Jur. Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan XI (4): 175-181
- Nuraini, S. dan S.A. Latif. 2007. *Potensi Neurospora crassa dalam meningkatkan kualitas onggok menjadi pakan kaya β karoten*. Laporan HB Tahap I Dikti. Lembaga Penelitian Universitas Andalas, Padang.
- Nurhayati, Nelwida dan Berliana. 2014. Pengaruh Tingkat Yogurt dan Waktu Fermentasi Terhadap Kecernaan In Vitro Bahan Kering, Bahan Organik, Protein, dan Serat Kasar Kulit Nanas Fermentasi. *Buletin Peternakan* Vol. 38 (3) : 182-188.
- Nurwidyarini, W. 2008. *Peningkatan Onggok dengan Biotehnologi sebagai Pakan Ternak Unggas*. Laporan Akhir Program Kreatifitas Mahasiswa. IPB, Bogor
- Pitriyatn. 2010. Peningkatan protein onggok-urea-zeolit yang difermentasikan oleh *Aspergillus niger* (cassabio) dengan penambahan ammonium sulfat sebagai sumber sulfur. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor, 90 – 92.
- Rahman, A., S. Fardiaz, W.P. Rahaju, Suliantari dan C.C. Nurwitri. 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Pusat Antar Universitas
- Rosningsih, S. 2011. Evaluasi Nilai Nutrisi Onggok Hasil Fermentasi Sebagai Bahan Pakan Ternak Unggas. *Jurnal Agrosains* Vol. 2 (3)., 1 September 2011.
- Sa'adah, Z, Ika, N dan Andullah. 2011. Produksi Enzim Selulose oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat. *Jurnal Pengembangan Teknologi Biologi* Vol 92 (3). Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Semarang.
- Scott, M.L, Nesheim, M.C dan Young, R.J., 1982. *Nutrition of Chicken*. ML Scott and Associates publishers. Ithaca, New York.
- Sudarmaji, S. 1984. *Proses-Proses Mikrobiologi Pangan I*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sudarmadji, S. 2003. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.

- Sumanti, D.M., C. Tjahjadi, M Herudiyanto dan T. Sukarti. 2009. Mempelajari mekanisme produksi minyak sel tunggal dengan sistem fermentasi padat pada media onggok-ampas tahu dengan menggunakan kapang *Aspergillus terreus*. <http://pustaka.unpad.ac.id> (5 Desember 2011)
- Sundari. 2000. Pengaruh Fermentasi dengan *Candida utilis* pada Bungkil Inti Kelapa Sawit terhadap komposisi kimia, energy metabolism dan kecernaan nutrient untuk ayam kampung. *Tesis*. Program Pasca Sarjana UGM. Yogyakarta
- Suparjo, S. Syarieff dan Raguati. 2003. Pengaruh penggunaan pakan berserat tinggi dalam ransum ayam pedaging terhadap organ dalam. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan* Vol VI: 42-48
- Supriyati. 2003 Onggok Terfermentasi dan Pemanfaatannya dalam Ransum Ayam Ras Pedaging. *Jurnal Balitnak*
- Supriyati, D. Zaenudin, I.P. Kompiang, P. Soekarno dan D. Abdurachman. 2003. Peningkatan mutu onggok melalui fermentasi dan pemanfaatannya sebagai bahan pakan ayam kampung. *Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor, 29-30 September 2003. Puslitbang Peternakan, Bogor. Hlm. 381-386.
- Surisdiarto. 2003. *Pakan untuk Ayam Buras*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang
- Surisdiarto. 2003. Perubahan kimiawi dan daya cerna *azolla* yang difermentasi dengan ragi tempe. *Buletin Peternakan* 27 (1): 16-22
- Tabrani, H., E. Kusumanti, Surono, E.T. Setiatin, B. Waluyo dan H. E. Prasetyono. 2002. Pemanfaatan limbah onggok dengan biofermentasi dalam meningkatkan daya gunanya sebagai pakan ternak. Puslit Bangtek/ LPN Undip, Semarang. www.Undip.ac.id/riset/riset-put-bungtek. (4 Februari 2010)
- Tampoebolon, B.I.M. 2009. Kajian Perbedaan Aras Dan Lama Pemeraman Ferementasi Ampas Sagu dengan *Aspergillus Niger* Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar. *Prosiding Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan – Semarang*, 20 Mei 2009. pp. 235-243.
- Tapingkae,W.,M.Yachai, W. Wisessanguan, P. Poptanya, dan P. Pongpiachan. 2007. Influence of crude xylanase from *Aspergillus niger* FAS128 on the in vitro digestibility and production performance of piglets. *J. Anim. Sci.* 140: 125-138.
- Thanh N.C., dan J.S. Wu, 1976. Treatment of tapioca starch waste walter by torulla yeast. *J. Applied Sci. Resesarch of Thailand* 8 (4):202-205.

Wikipedia. 2016. *Aspergillus Niger*, Fermentasi Bahan Pakan. http://id.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_niger_fermentasi_bahan_pakan. di akses tanggal 20 September 2016.

Wizna. 2008. Efisiensi Penggunaan Energi Metabolis Ransum Berbasis Onggok yang Difermentasi Bacillus amyloliquefaciens pada Ayam Broiler. *Media Peternakan*. Vol.31 No.3. Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas

Yudhistira, Sagita., Iskandar dan Y. Andriani. 2015. Pengaruh Penggunaan Daun Apu-apu (*Pistia stratiotes*) Fermentasi Dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan Harian dan Rasio Konversi Pakan Benih Ikan Nilem. *Jurnal Akuatika* Vol. VI (2) : 118-127. Universitas Padjajaran. Bandung

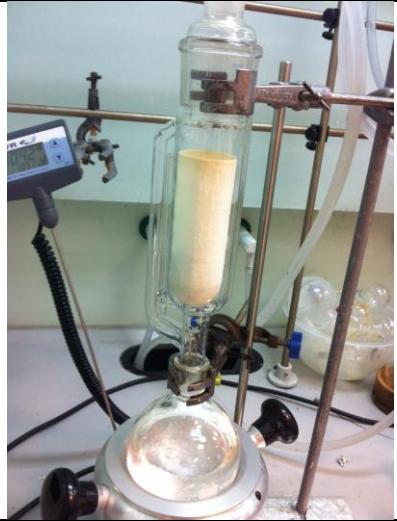
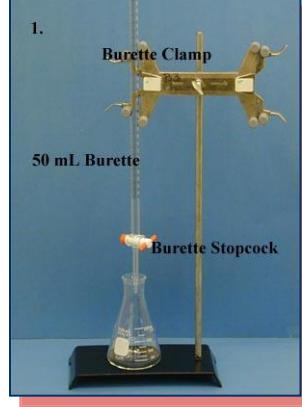
LAMPIRAN

Lampiran 1. Instrumen

DAFTAR PERALATAN YANG DIPERGUNAKAN UNTUK ANALISIS KIMIA PRODUK PENELITIAN

No.	Nama Instrumen	Spesifikasi / Foto
1.	Timbangan analitik -	
2.	Autoclave	 
3.	Laminer / Enkas	

4.	Shaker Waterbath	
5.	Incubator – Oven Memert	
6.	Cabinet Dryer, alat pengering hasil fermentasi	
7.	Refrigerator, alat penyimpan produk	

8.	Blender, alat penghalus partikel sampel.	
9.	Ekstractor Soxhlet, analisis lemak kasar	
	Alat titrasi analisis Protein kasar	 <p>1. Burette Clamp 50 mL Burette Burette Stopcock</p>

	Buchner dan pompa vacuum, alat analisis serat.	
10.	Fermentor	
11.	Almari asam	

Lampiran 2. Personalia tenaga pelaksana beserta kualifikasinya.
 Tim Peneliti

No	Nam a	Jabatan	Bidang Keahlian	Instansi Asal	Alokasi Waktu (jam/mingg)
1	Dr. Ir. Sundari, M.P.	Ketua	Nutrisi dan Makanan Ternak	UMBY	24
2	Dr. Ir. Bayu Kanetro, M.P.	Anggota 1	Ilmu Pangan	UMBY	18
3.	Fivien Fidiyanti	Mahasiswa Pembantu peneliti	Ilmu Peternakan	UMBY	24
4.	Triyatun	Mahasiswa Pembantu peneliti	Ilmu Peternakan	UMBY	24
5.	Pijarto	Laboran Lab Mikrobiologi	Ilmu Biologi	UMBY	18
6.	Slamet Sriyanto	Laboran Lab peternakan	Ilmu Peternakan	UMBY	18

Nutrient Content of Cassava Dregs and Rice Bran Fermented with *Aspergillus niger*

Sundari¹Bayu Kanetro², Fivien Fidiyanti³ and Triyatun⁴

Abstract— The aim of the present study was to investigate the nutrient content and the potential application as feed from cassava dregs and rice bran fermented with *Aspergillus niger*. The research used a One-Way Completely Randomized Design on two substrate treatments including cassava dregs and rice bran fermented with *Aspergillus niger*, each with 3 replicates. The obtained data between control and substrate fermented with *Aspergillus niger* were analyzed using t-test. Both cassava dregs and rice bran substrates were suitable for *Aspergillus niger* fermentation, but crude protein increase was higher in rice bran (8.44%) while crude fiber decrease was higher in cassava dregs (20.93%) followed by increasing 19.53% nitrogen free extract (NFE). It was concluded that rice bran fermented with *Aspergillus niger* is a potential protein feed with 31.54% crude protein, while cassava dregs fermented with *Aspergillus niger* is a potential energy feed with 67.37% NFE.

Index Terms— Nutrient, Cassava Dregs, Rice Bran, Fermentation, *Aspergillus niger*.

1 INTRODUCTION

Harvested area of cassava in Indonesia in 2015 was 0.95 million ha, with 21.80 million ton production and 22.95 ton/ha productivity. In 2016, it was estimated to be 1.11 million ha harvested area and 20.23 ton/ha productivity, therefore the expected cassava production was 25 million tons [1]. Indonesia is the fourth leading country that produce cassava among Nigeria, Brazil, Thailand and Kongo. Approximately 60% of worldwide cassava is produced from the five countries [2]. The manufacture of tapioca powder made of cassava produces 10-15% dregs. (Figure 2)[3]. Each ton of cassava produce 250kg tapioca and 114kg cassava dregs [4]. The nutrient content of cassava dregs includes 1.88% crude protein, 1.15% ash, crude fat 0.25%, crude fiber 15.62%, Ca 0.31%, P 0.05% and nitrogen free extract (NFE) 81.10%[5]. Metabolic energy of cassava dregs is 3000 kcal/kg with high cyanide by 1.75 mg/g [6]. Over a period of days, cassava dregs will emit acidic and rotten odor due to high water content, thereby polluting the environment. In order to reduce the pollutant, cassava dregs can be utilized as cattle feed.

The nutrient content of cassava dregs consists of low crude protein and high crude fiber; therefore, the usage is limited to poultry feed. High fiber feed is voluminous or bulky and may cause the gizzard full quickly. This type of feed has longer transit time in digestive tract, so the animal will reduce feed intake due to the limited digestive capacity. It brings detrimental effect on the chicken growth because physiologically it loses feed nutrients [7]. Cassava dregs for poultry feed has not been optimized. In broiler ration,

cassava dregs should not exceed 6%, otherwise the growth will decline [8].

Rice bran is the dregs from rice mill, after the paddy grains are ground into rice on the first dehusking with brownish yellow color and coarse texture (Figure 2), while rice polish is the dregs from the second dehusking with brownish white color and soft texture. Rice production in Indonesia reached 75.36 ton dry unhusked rice [9]. Rice mill produced 65% rice, 23% husk and 10% rice bran and rice polish [10]. Nutrient content in rice bran is 12-14% protein, 7-9% fat, 8-13% crude fiber and 9-12% ash [11]. High fat content makes the rice bran easily spoiled (pungent odor). The limiting factor of rice bran utilization is low amino acid, vitamin and mineral, and high crude fibre approximately 13.0% and phytate substance that binds protein mineral so it is not utilized by digestive enzyme [12].

Improving the nutritive quality of cassava dregs or rice bran needs efforts to increase crude protein and decrease crude fiber through fermentation with *Aspergillus niger*, for example. The well-growth mold is expected to produce plenty cellulose enzyme in order to degrade and decrease crude fiber [13]. *Aspergillus niger* can produce cellulase, xylanase, β -glucanase, and protease that are active in neutral and acidic condition [14]. The use of *Aspergillus niger* mould as a starter in the fermentation process was considered as the most suitable and appropriate with the purpose of fermentation, that is to decrease fiber content and increase crude protein content of cassava dregs and rice bran [15]. Therefore, it is important to conduct a study on the nutrient content of cassava dregs and rice bran fermented with *Aspergillus niger* inoculum.

2 METHOD

The study was conducted on Laboratory of Basic Nutrition and Laboratory of Chemistry MercuBuana Yogyakarta University between 1 November 2016 to 10 December 2016. One-way Completely Randomized Design (CRD) was used to 2 substrates (T_1 = cassava dregs, T_2 = rice

• ¹Sundari, Program Studi Peternakan, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Yogyakarta, PH-081328746141. E-mail: sundari@mercubuana-yogya.ac.id; sundari.umby@gmail.com

• ²Bayu Kanetro, Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Yogyakarta, Phone-085101499370. E-mail: bayukanetro@mercubuana-yogya.ac.id

• ³Fivien Fidiyanti, Program Studi Peternakan, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Yogyakarta, PH-0895336728942, E-mail: fivienfidiyanti.ugm@gmail.com

• ⁴Triyatun, Program Studi Peternakan, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta, Yogyakarta, PH-0895336728942, E-mail: triyatun94@gmail.com

bran) each with 3 replicates. The observed variables were nutrient content, (chemical properties) including water content, ash, crude protein, crude fat / extract ether and crude fiber.

The main ingredient was inoculum of *Aspergillus niger*mould obtained from Laboratory of Microbiology MercuBuana Yogyakarta University. The substrates were cassava dregs and rice bran and additional ingredients including urea, molasses, mineral-mix, 70% alcohol and aquadestthat were bought from local market in Yogyakarta, Indonesia.

The main apparatus consisted of autoclav, laminer, Memert® incubator oven, Sharp® refrigerator, Miyako® blender, pH meter, termometer, stove and a set of proximate analysis apparatus.

The stages of the study included: A) Rejuvenating *Aspergillus niger*culture, B). Making solid substrate inoculum from *Aspergillus niger*, C). Fermenting cassava dregs and rice bran using the solid inoculum of*Aspergillus niger* incubated for 3 days then cabinet-dried at 60°C for 1 day (completely dry), and at last proximate analysis that examined water content, ash, crude protein, crude fat and crude fiber.

A. Rejuvenation of *Aspergillus niger* culture

Rejuvenating *Aspergillus niger* culture started by preparing the sterilized reaction tube and filled with sterilPotato DextroseAgar (PDA) solution, then sealed the tube with sterile gauze dressing and stored in tilted position. Pure *Aspergillusniger* was inoculated (using ose needle) into a reaction tube filled with sterilPotato DextroseAgar (PDA) in zigzag movement, then incubated at 35°C for 120 hours [16]. However, the incubation in this study was 48h to obtain a medium-aged *Aspergillusniger* with an intact mould structure and faster cell multiplication and mould growth. Figure 1 shows the spores of *Aspergillus niger*.



Fig. 1. *Aspergillus niger* (400x)

B. Solid-state fermentation of *Aspergillus niger*inoculant:

1. All materials including 1000 gram of each substrate cassava dregs or rice bran with 70% water content, 11.4 gram mollase(1.14%), 5 gram urea (0.5%) and 12.5 gram mineral (1.25%) were sterilized in autoclave at 120°C and 1 atm pressure for 15 minutes,
2. Upon sterilization, all materials were mixed to until homogenous with *Aspergillus niger*mould that was previously suspended with aquadest,
3. The well-mixed materials were incubated at 35°C for 72h,
4. Substrate in which mould had grown was oven-dried at

60°C until the ingredients were completely dry, then crushed into powder to be used as the solid inoculant.

C. Method of fermenting cassava dregs and rice bran[17]

1. All materials (B.1.) were sterilized in autoclave at 121° C under 1 atm pressure for 15 minutes,
2. After being sterilized, the materials were cooled until the temperature was 30-35C,
3. Dry matter content of the substrate was measured,
4. Water demand of both cassava dregs and rice bran (to obtain 70% water content) was measured for fermentation process and all ingredients were mixed until homogenous,
5. With the same method, 12 samples were prepared (2 treatments and 2 control of each substrates with 3 replicates) the inoculated with 10% (w/w) *Aspergillus niger* (B.4.) [18],
6. *Aspergillus niger*-inoculated cassava dregs and rice bran were stored in mica plastic bag with hole on top to obtain anaerob condition,
7. Incubation lasted for 3 days in a container with partition for each treatment at room temperature (28°C),
8. After incubation, cassava dregs, rice bran and each control (fermentation product) was weighed, dried in cabinet dryer and taken the sample for proximate analysis [19].

The obtained data from control vs fermented substrate from both cassava dregs and rice bran were subject to t-test statistical analysis fermented [20].

3 RESULT AND DISCUSSION

Result of t-test showed a significant difference ($P<0.05$) in nutrient content between control (without *Aspergillus niger*inoculum) and substrates incubated with *Aspergillus niger*, in both fermented cassava dregs and rice bran.

Analysis of t-test result indicated that the use of *Aspergillus niger*inoculum starter significantly affected ($P<0.05$) ash content in fermented rice bran (Table 1). Ash content increased (6,10%) assumedly due to the additional mineral for *Aspergillus niger*growth [21]. Ash content in feed indicated the level of mineral in feed [22].

T-test analysis showed that the use of *Aspergillus niger*inoculumsignificantly affected ($P<0.05$) to crude protein offermented cassava dregs and rice bran compared to that of control (Table 1).The increase of crude protein as observed in this research was assumedly due to the optimum fermentation of *Aspergillus niger*with the enzyme activity of *Aspergillusniger*mould such as cellulose that released the protein bound in lignin. The increase of crude protein might due to the ability of *Aspergillusnigerto* convert non protein nitrogen (urea) into nitrogen needed for cell growth, enzyme production and protein synthesis [23]. The increase of protein linear to the growth of *Aspergillus niger*was due to several nitrogen-bearing elements in the mould; moreover, the enzyme produced by the fungus was also protein [24]. Bacteria and fungus can produced enzyme that loosen the ligno-cellulose and ligno-hemicellulose bond, so the protein bound in lignin will release [25]. The increased protein may

be attributed to the higher biomass of *Aspergillus niger* where most of the cells were protein (*Single Cell Protein*) [26].

Result of t-test showed that the use of *Aspergillus niger* inoculum significantly affected ($P<0.05$) the decreasing fat content in the fermented cassava dregs and rice bran compared to that of control (Table 1). Research result indicated that fat content of fermented rice bran and cassava dregs was 5.65% and 1.33%, respectively, compared to that of control. The decreased fat was contributed to the dry matter loss during fermentation and mould growth and development to form fat-containing cell mass. The decreased crude fiber of fermented substrate was because the substrate contained glucose that promoted the growth of mould biomass; consequently, more lipase enzyme was produced to degrade crude fat. Lipase enzyme produced by *Aspergillus niger* can degrade lipid into fatty acid and glycerol that will be used as energy source for growth [27].

Result of t-test showed that the use of *Aspergillus niger* inoculum significantly ($P<0.05$) lowered crude fiber in fermented cassava dregs and rice bran (Table 1). Crude fiber decreased by 20.93% in cassava dregs and 12.51% rice bran substrates. It was in line with [28] that crude fiber and crude protein decreased in cassava dregs fermented by *Aspergillus niger* for 72h.

The complete result of nutrient content of rice bran and cassava dregs fermented with *Aspergillus niger* compared to that of control is presented in Table 1.

TABLE 1.

Composition of Nutrient Cassava dregs and Rice bran Fermented by *Aspergillus niger* at doses 10% (w/w)

Nutrient Dry-matter basis (%)	Substrat			
	Cassava dregs		Rice bran	
	control T1	T1	control T2	T2
Ash	7.44 ^a	7.43 ^a	13.08 ^p	19.17 ^q
Crude protein	9.20 ^a	11.94 ^b	23.10 ^p	31.54 ^q
Crude fat	1.62 ^b	0.29 ^a	9.47 ^q	3.82 ^p
Crude fiber	33.92 ^b	12.98 ^a	27.26 ^q	14.75 ^p
NFE	47.83 ^a	67.37 ^b	27.29 ^p	30.71 ^q
Dry matter	100	100	100	100

^{a,b}, values bearing different superscript within rows show significant difference($P<0.05$)

^{p,q}, values bearing different superscript within rows show significant difference($P<0.05$)

Control T1 = fermented Dregs of cassava without *Aspergillus niger* inoculum

T1 = fermented Dregs of cassava with *Aspergillus niger* inoculum

Control T2 = fermented rice bran without *Aspergillus niger* inoculum

T2 = fermented rice bran with *Aspergillus niger* inoculum

Table 1 shows that fermented cassava dregs could increase crude protein by 2.74% but lowered crude fiber by 20.93% and increased NFE by 19.53%. However, in rice bran substrates between control T2 (without inoculation) vs T2 rice bran inoculated with *Aspergillus niger* crude protein increased by 8.44% and the crude fiber decreased by 12.51%.

Physical difference between cassava dregs before fermentation (CD) and after *Aspergillus niger* fermentation (FCD) and between rice bran (RB) solid in the market before

fermentation and the rice bran fermented with *Aspergillus niger* (FRB) is presented in Figure 2. At the initial study, the ingredient was apparently whiter, while the fermented was blackish brown (because the color of *Aspergillus niger* spores is black with additional brownish molasses).



Fig. 2. Cassava dregs (CD) vs fermented cassava dregs (FCD) and rice bran (RB) vs fermented rice bran (FRB),(Photo: private document)

4 CONCLUSION

It was concluded that 10% w/w *Aspergillus niger* inoculum in the fermentation of cassava dregs and rice bran could increase crude protein and NFE and lowered crude fat and crude fiber. Cassava dregs fermented with *Aspergillus niger* as energy source contained 67.37% nitrogen free extract (NFE), while rice bran fermented with *Aspergillus niger* could serve as protein source with 31.54% crude protein.

ACKNOWLEDGMENT

Authors expressed sincerest gratitude to the Rector and LPPM MercuBuana Yogyakarta University for the grant, and to the research team, laboratory assistant and students who participated in the study.

REFERENCES

- [1] Widaningsih, R., 2016. Outlook Komoditas Pertanian Tanaman Pangan Ubi Kayu. Pusat data dan sistem informasi pertanian kementerian pertanian Indonesia ISSN:1907-1507.
- [2] FAO. 2011. The cassava transformation in Africa". The Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- [3] Putri, T.P., B.A. Bagus and A. Fitri. 2008. Efek Fermentasi berbagai Jenis Mikroorganisme terhadap Kompleks Onggok-Urea-Zeolit. PKM. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/32708>
- [4] Anonimus. 2011. Data komoditas produksi ubi kayu nasional. www.deptan.go.id. (4 Februari 2011)
- [5] Wizna. 2008. Efisiensi Penggunaan Energi

- MetabolisRansumBerbasisOnggok yang Difermentasi*Bacillus amyloliquefaciens*spadaAyam Broiler. *Media Peternakan.* 31 (3): 172-177.
- [6] Abidin, Z., 2003. MeningkatkanProduktivitasAyamRasPedaging. PenerbitAgromediaPustaka. Jakarta.
- [7] Wahju, J. 1997. *Nutrisi Ternak Unggas.* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- [8] Nuraini, S. and S.A. Latif. 2007. *PotensiNeurosporacrassadalammeningkatkan kualitas cassava dregs menjadipakan kaya β karoten.* Laporan HB Tahap I Dikti. Lembaga Penelitian Universitas Andalas, Padang.
- [9] BPS (2016). Abstraksi A. PADI, pada <https://www.bps.go.id/brs/view/1271> diakses 19 Agustus, 2017
- [10] Rasyaf, M. (2004). *Seputar makanan ayam kampung.* Cetakan-8. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- [11] Murni, R., Suparjo, Akmal and B.L. Ginting. 2008. *Buku ajar teknologi pemanfaatan limbah untuk pakan.* Laboratorium Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi. Jambi.
- [12] Yudono, B.F.O. and Hermansyah. 1996. Komposisi asam lemak sekam and rice bran. *Majalah Sriwijaya,* 32(2) : 8-11.
- [13] Nurhayati, Nelwida and Berliana. 2014. Pengaruh Tingkat Yogurt and WaktuFermentasiTerhadapKecernaanIn Vitro BahanKering, BahanOrganik, Protein, and serat kasarKulit Nanas Fermentasi. *Buletin Peternakan,* 38(3) : 182-188.
- [14] Tapingkae,W.,M.Yachai, W. Visessanguan, P. Pongtanya and P. Pongpiachan. 2008. Influence of crude xylanase from *Aspergillusniger* FAS128 on the in vitro digestibility and production performance of piglets. *AnimalFeedScienceand Technology,* 140(1) : 141-154.
- [15] Tampobelon, B.I.M. 2009. KajianPerbedaan Aras Dan Lama PemerasanFermentasiAmpasSagudengan*Aspergillusniger*TerhadapKandungan protein kasar and serat kasar. *Prosiding Seminar NasionalKebangkitanPeternakan – Semarang,* 20 Mei 2009. pp. 235-243.
- [16] Sa'adah, Z, Ika, N.S. and Abdullah. 2008. ProduksiEnzimSelulase oleh*Aspergillusniger*MenggunakanSubstratJeramidenganSistemFermentasiPadat. *Skripsi.Jurusanteknik Kimia* FakultasTeknikUniversitasDiponegoro. Semarang.eprints.undip.ac.id/13063/1/ARTIKEL_ILMIAH.pdf
- [17] Sundari., and S. Rosningsih.2014 . Palm Kernel Cake Fermented with *Candida utilis*for Mannose-Enriched Local Feed Supply. *International Journal of Scientific & Engineering Research,* 5(9): 832-835.
- [18] Fidiyanti, F. 2017. Pengaruh level Aspergillus niger inoculum terhadap kandungan nutrien onggok fermentasi. *Skripsi,* Program studi Peternakan, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buana Yogyakarta.
- [19] AOAC. 2006 .*Official Methods of Analysis.* Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- [20] Astuti, M. 2007. *PengantarIlmuStatistikUntukPeternakan and KesehatanHewan.* CempakaPertama. Bina Publisher. Bogor.
- [21] Surisdiarto. 2003. Perubahankimiawi and dayacernaazolla yang difermentasidenganragitempe. *BuletinPeternakan* 27 (1): 16-22
- [22] Dani, N.P., A. Budiharjo and S. Listyawati. 2005. KomposisiPakanBuatanuntukMeningkatkanPertumbuhan and Kandungan Protein IkanTawes (PuntiusjavanicusBlkr.). *Bio Smart,* 7 (2): 83-90.
- [23] Rosningsih, S. 2011. EvaluasiNilaiNutrisionggokHasilFermentasiSebagaiBahanPakanTernakUnggas. *JurnalAgrosains,* 2 (3) : 23-30.
- [24] Noferdiman, Y. Rizal, Mirzah, Y. Heryandi, and Y. Marlida. 2008. Penggunaan urea sebagai sumber nitrogen pada proses biodegradasisubstratlumpur sawitolehjamur*Phanerochatechrysospor* ium. *Jur. IlmiahIlmu-ilmuPeternakan,*11(4): 175-181
- [25] Akin, D.E., L.L. Rigsby, Sethuraman, A. Morrison, Gamble, R. and Eriksson. 1995. Alterations in structure, chemistry, and biodegradability of grass lignocelluloses treated with white rot fungi Ceriporiopsis sub vermispora and Cyathusstercoreus. *Appl. Environ.Microbiol.* 61(4): 1591 -1598
- [26] Yudhistira, Sagita,Iskandar and Y. Andriani. 2015. PengaruhPenggunaanDaunApu-apu(*Pistiastratiotes*) FermentasiDalamPakanTerhadapPertumbuhanHarian and RasioKonversiPkanBenihIkanNilem. *JurnalAkuatika*6(2) : 118-127.
- [27] Kusumaningrum. M, C. I. Sutrisno, and B.W.H.E. Prasetyono. 2012. Kualitaskimiaransumsapipotongberbasislimbahpertanian and hasilsampingpertanian yang difermentasidengan*Aspergillusniger.* *Animal Agriculture Journal,* 1(2): 35-42
- [28] Suparjo, S. Syarief and Raguati. 2003. Pengaruhpenggunaanpakanberserattinggidalamransumayamped agingterhadap organ dalam. *JurnallIlmiahIlmu-ilmuPeternakan,* 6(1): 42-48.

Lampiran 4. Produk Penelitian Lainnya

Luaran Hasil Penelitian, Berupa Metode Dan Produk Inokulum Padat

Produk Penelitian berupa : Gambar foto Metode pembuatan Star-niger (starter padat dari kapang *Aspergillus niger*) & Produk Starniger (Starter mikrobia dominan *A. niger*).

a. Tahap inokulasi *Aspergillus niger*



b. Tahap pembuatan inokulum padat *Aspergillus niger*





Bahan didinginkan setelah di autoclave



Pengambilan *A. niger* yang telah diremajakan dimasukkan ke dalam aquades



Pencampuran semua bahan hingga homogen



Bahan yang sudah homogen diletakkan di dalam nampang dan ditutup dengan plastik berlubang, di inkubasikan 3 hari



c. Tahap Fermentasi Onggok



 <p>Pemilahan bahan menjadi 6 bagian</p>	 <p>Pencampuran bahan dengan <i>A. niger</i> dengan level inokulum yang berbeda-beda (0%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%)</p>
 <p>Bahan diwadahi dalam plastik mika yang telah dilubangi bagian atasnya</p>	 <p>Inkubasi rak bersekat selama 3 hari</p>
 <p>Pengamatan pertumbuhan kapang <i>A. niger</i></p>	 <p>Pengemasan onggok fermentasi yang akan dikeringkan dengan kertas payung</p>



Pengeringan dalam *cabinet dryer*
selama 48 jam

Bahan yang kering dihaluskan
dan disimpan dalam refrigerator
Sbg Produk akhir inokulum
“Star-niger”