

BAB 3



Peran Mikrob dalam Proses Fermentasi Mocaf

Ema Damayanti

Pada proses fermentasi seperti proses pembuatan mocaf yang menggunakan ubi kayu sebagai substratnya, mikrob memiliki peranan yang sangat penting. Peran penting mikrob ini disebabkan oleh mikrob sebagai agen bioreaktor yang dapat menghasilkan enzim-enzim penting yang memiliki andil besar dalam metabolisme senyawa antinutrisi dan meningkatkan nutrisi ubi kayu serta memperbaiki karakteristik fisikokimia mocaf yang dihasilkan.

A. Ubi kayu sebagai Substrat Pertumbuhan Mikrob

Ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz), sebagai bahan baku utama dari mocaf, merupakan sumber kalori yang penting di negara-negara tropis dan sumber makanan pokok di 24 negara di Afrika (Nwokoro & Anya, 2011; Nhassico, Muquingue, Cliff, Cumbana, & Bradbury, 2008). Sebanyak 65–70% dari total produksi ubi kayu digunakan untuk konsumsi manusia dan ternak, 25–30% untuk keperluan industri dan 10% berupa limbah (Alamu, Maziya-Dixon, & Dixon, 2017). Kebutuhan ubi kayu untuk industri di Indonesia umumnya

berupa *chips*/gapek, tepung, tapioka, serta pemanis, seperti *high-fructose syrup*, dekstrosa, maltosa, dan sorbitol, juga dimanfaatkan sebagai sumber bahan bakar baru, yaitu etanol (Wargiono & Richana, 2008).

Komposisi nutrisi ubi kayu sebagian besar adalah karbohidrat berupa pati (80% berat kering) dan sebagian kecil berupa protein dengan kadar rendah hanya 0,5–3% (Morgan & Choct, 2016; El Sarkhawy, 2004). Ubi kayu memiliki keunggulan pada jenis serat pangan yang ditemukan pada ubi kayu segar, tepung, dan pati berturut-turut sebesar 6,9%, 13,4%, dan 11,67%. Serat pangan yang berbentuk karbohidrat kompleks sangat penting bagi kesehatan, yaitu mencegah berbagai penyakit dan sebagai komponen penting dalam terapi gizi (Masniah & Yusuf, 2013). Ubi kayu dinilai lebih baik daripada beras dari segi komposisi nutrisi karena tinggi kandungan makronutrien (kecuali protein) dan mikronutrien, seperti serat pangan, dan juga memiliki indeks glikemik yang lebih rendah sehingga dianggap sebagai pangan fungsional. Serat pangan pada ubi kayu berupa serat larut (*soluble fiber*) dan serat tidak larut (*non-soluble fiber*). Serat larut berfungsi memperlambat pencernaan pati, menurunkan kadar gula darah, dan kebutuhan insulin. Serat tidak larut berperan mengurangi risiko kanker usus, wasir, dan difterkulososis. Oleh karena itu, ubi kayu tidak hanya cocok untuk konsumsi penderita diabetes, tetapi juga untuk menjaga kesehatan organ saluran cerna (Wargiono & Richana, 2008).

Nutrisi yang terkandung dalam ubi kayu, baik makronutrien maupun mikronutrien, terdiri atas komponen karbon, nitrogen, hidrogen, dan mineral penting, seperti besi, fosfor, kalsium, dan sejumlah kecil vitamin yang merupakan sumber substrat dan mineral bagi pertumbuhan mikrob. Selain memiliki kandungan nutrisi yang bermanfaat, ubi kayu diketahui mengandung antinutrien yang keberadaannya tidak diharapkan. Mikrob dapat memanfaatkan dan memetabolisme komponen nutrisi dan antinutrien dari ubi kayu selama proses fermentasi.

a. Antinutrisi sebagai faktor pembatas dalam ubi kayu

Hampir seluruh bagian pohon ubi kayu, dari daun sampai umbi, mengandung sejumlah besar glikosida sianogenik berupa linamarin dan lotaustralin. Linamarin berjumlah 95% dari total sianoglikosida yang terkandung dalam ubi kayu (Nwokoro & Anya, 2011). Sianogen ubi kayu ditemukan dalam tiga bentuk, yaitu glikosida sianogenik (95% linamarin dan 5% lotaustralin), sianohidrin, dan sianida bebas (Montagnac, Davis, & Tanumihardjo, 2009). Kandungan antinutrien sianida sangat bergantung pada jenis atau kultivar ubi kayu. Kandungan sianida pada ubi kayu dengan kategori tidak beracun berkisar < 50 ppm, beracun sedang berkisar 50–100 ppm, dan sangat beracun berkisar >100 ppm (Cardoso dkk., 2005). Kandungan linamarin (ekuivalen dengan HCN, *hydrogen cyanide*) pada ubi kayu jenis pahit, bahkan dapat mencapai 900–2.000 mg/kg berat ubi kayu segar (Nhassico dkk., 2008). Kandungan sianida dalam bentuk glikosida sianogenik yang berupa linamarin dan lotaustralin dalam ubi kayu menjadi faktor pembatas utama dalam pemanfaatannya sebagai sumber pangan dan pakan (Padmaja & Steikraus, 2009).

Sianida pada ubi kayu diketahui dapat menyebabkan keracunan dengan gejala sakit kepala, mual, pusing, diare, dan muntah. Keracunan akut dapat memperparah gondok dan kretinisme, khususnya di daerah yang kekurangan yodium, menyebabkan konzo dan *tropical ataxic neuropathy* (TAN) serta kekerdilan pada anak-anak (*stunting*), gangguan saraf, hingga kematian (Nhassico dkk., 2008; Ojo & Akande, 2013). Konzo terjadi pada 1993 terhadap lebih dari 3.700 penduduk di beberapa negara Afrika, yang ditandai dengan kelumpuhan *irreversible* secara tiba-tiba akibat kerusakan neuron motorik karena konsumsi sianida dan pangan rendah protein (Nzwalo & Cliff, 2011). Konsumsi sianida dalam jumlah tinggi dan terus-menerus pada orang dewasa juga diketahui dapat menyebabkan gondok, kretinisme, kelumpuhan, dan gangguan saraf.

Selain sianida, antinutrien lain yang terdapat dalam ubi kayu adalah fitat, tanin, dan polifenol (Oyetayo, 2006; Montagnac dkk., 2009). Kandungan fitat pada ubi kayu segar sebesar 225,64 mg/100 g, sedangkan tanin 0,52% (Oyetayo, 2006). Polifenol dalam ubi kayu terdapat dalam bentuk gallokatekin, katekin, dan katekin gallat. Akumulasi polifenol terjadi ketika ubi kayu mengalami kerusakan (Montagnac dkk., 2009).

Antinutrien fitat (inositol heksakisfosfat) bersifat mengikat protein dan mineral dalam saluran cerna sehingga menghambat penyerapan dan penggunaannya oleh tubuh. Fitat juga mengganggu penyerapan zat besi dan zink sebagai nutrisi esensial. Sementara itu, walaupun diketahui memiliki fungsi sebagai antioksidan, antinutrien polifenol juga dapat mengikat mineral esensial sehingga menyebabkan hambatan dalam absorpsi oleh tubuh (Montagnac dkk., 2009).

Berbagai upaya dilakukan untuk membuat ubi kayu aman dikonsumsi. Upaya tersebut umumnya bertujuan mengurangi kadar antinutrisi, khususnya sianida; memodifikasi pati; serta memperpanjang daya simpan dari ubi kayu (Adegunwa, Sanni, & Maziya-Dixon, 2011). Beberapa keunggulan yang didapatkan dengan teknik fermentasi antara lain meningkatkan kadar protein dan menurunkan kadar HCN pada produk ubi kayu (Akindahunsi, Obboh, & Oshodi, 1999), membawa perubahan sifat fisikokimia dan sifat fungsionalnya (Tanya, Darman, Ejoh, Mbahe, & Hamidou, 2006), umbi menjadi lebih lunak, glikosida sianogenik indigenus (linamarin dan lotaustralin) akan terdegradasi, dan didapatkan karakteristik rasa yang khas (Oyewole & Sanni, 1995).

b. Tipe fermentasi ubi kayu

Teknik fermentasi pada proses pengolahan ubi kayu dibagi menjadi dua tipe, yaitu:

1. Fermentasi alami atau spontan dengan mengandalkan mikroba yang secara alamiah ada pada substrat ubi kayu.
2. Fermentasi terkendali dengan menggunakan inokulum berupa mikroba tertentu yang ditambahkan pada substrat ubi kayu.

Fermentasi alami dalam proses pengolahan ubi kayu hanya mengandalkan mikroba alami yang terdapat dalam ubi kayu. Mikroba alami ubi kayu dapat bersumber dari tanah yang terbawa selama proses pemanenan, air yang digunakan dalam proses fermentasi atau mikroba yang berasal dari kulit atau ubi kayu itu sendiri. Perubahan komposisi mikroba selama proses fermentasi secara tradisional pada bahan baku ubi kayu mengakibatkan adanya perubahan komposisi biokimia (Tivana, Bvochora, Mutukumira, Owens, & Zvauya, 2007). Proses fermentasi ubi kayu secara alami melibatkan banyak mikroba spesifik, antara lain bakteri asam laktat (BAL), bakteri selulolitik, dan khamir (*yeast*) amilolitik (Achi & Akomas, 2006).

Fermentasi alami tidak dapat mengendalikan mikroba kontaminasi yang mungkin ada. Oyetayo (2006) menyebutkan, pada proses fermentasi *pupuru* menggunakan air mengalir, ditemukan sejumlah mikroba patogen, seperti *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus*. Ojo dan Akande (2013) juga menyebutkan bahwa fermentasi alami ubi kayu umumnya dilakukan melalui teknik fermentasi padat/*solid state fermentation* (SSF) yang diakhiri dengan proses penjemuran di bawah sinar matahari dan penyimpanan sebelum dikonsumsi. Proses ini sangat berpotensi terjadinya kontaminasi kapang penghasil mikotoksin, seperti yang terjadi pada proses pembuatan *gari*. Pada proses pembuatan gapek juga ditemukan kapang kontaminan, antara lain *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., dan *Rhizopus* sp. (Yulineri, Hardiningsih, & Suciati, 1997). Pada penelitian lain juga ditemukan berbagai jenis *Aspergillus* pada gapek, yaitu *A. flavus*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. foetidus*, *A. zonatus*, dan *A. tamarii*, dengan *A.*

flavus sebagai kapang dominan yang tumbuh (Oramahi & Haryadi, 2006). Cemaran mikrob dari udara selama proses gapek juga ditemukan jamur penghasil mikotoksin dari 109 isolat yang dapat teridentifikasi sebagai *A. flavus*, *A. niger*, *A. tamarii*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *A. fumigatus*, *A. sydowii*, *Cladosporium marcocarpaceum*, *C. sphaerospermum*, *Eurotium herbariorum*, *Penicillium rugulosum*, *P. polonicum*, *P. griseofulvum*, *Talaromyces erythromellis*, dan *Trichoderma viride* (Pratiwi, Sidar, Zakaria, Darmadji, & Rahayu, 2015). Fermentasi ubi kayu secara alami juga diketahui masih menyisakan kandungan antinutrien, seperti sianida, tanin, fitat, dan saponin (Ojo & Akande, 2013).

B. Mikrob sebagai Bioreaktor Produsen Enzim

Ubi kayu merupakan jenis pangan sebagai sumber energi yang komponen utamanya berupa pati dan serat (Meryandini, Melani, & Sunarti, 2011). Dalam proses fermentasi, mikrob bekerja sebagai pemecah komponen nutrisi kompleks pada ubi kayu menjadi komponen sederhana. Proses pemecahan komponen-komponen kompleks tersebut melibatkan enzim yang jenis dan jumlahnya sangat ditentukan oleh spesies mikrob penghasil. Berikut ini beberapa jenis enzim, spesies mikrob yang menghasilkan, dan substrat ubi kayu yang digunakan. Dengan demikian, keberadaan mikrob penghasil enzim dalam proses fermentasi ubi kayu menjadi faktor penting untuk biokonversi ubi kayu.

Tabel 3.1 Jenis Enzim, Spesies Mikrob Penghasil dan Substrat Utama yang Dipecah pada Ubi Kayu

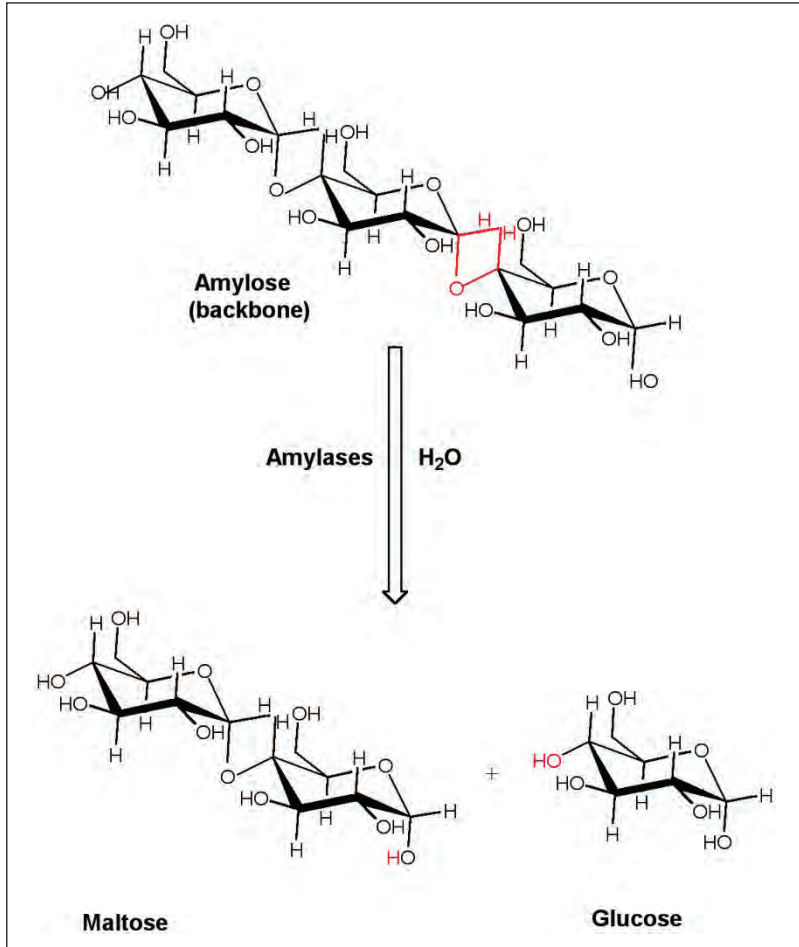
Enzim	Mikrob	Substrat	Sumber referensi
α -amilase dan amiloglukosidase	<i>Aspergillus fumigatus</i> KIBGE-IB33	Pati ubi kayu	Pervez, Aman, Iqbal, Siddiqui, dan Qader (2014)
α -amilase dan glukamilase	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i> DSM-70554	Pati ubi kayu	Gonzales, de Figueroa, dan Farina (2007)

Enzim	Mikrob	Substrat	Sumber referensi
amilase, protease	<i>Bacillus subtilis</i> strain LB1a and LB5a	Limbah cair ubi kayu	Barros, Simiqueli, de Andrade, dan Pastoreet (2013)
fitase	<i>Aspergillus japonicus</i> URM 5633	Pati ubi kayu	Moreira, Herculano, Maciel, Porto, Spier, dkk. (2014)
selulase	<i>Aspergillus fumigatus</i> dan <i>A. repens</i>	Limbah cair ubi kayu	Arotupin (2007)
selulase, xylanase	<i>Aspergillus terreus</i> KJ829487	Kulit ubi kayu	Olanbiwoninu dan Odunfa (2006)
selulase	<i>Bacillus pumilus</i> C11-1		Meryandini dkk. (2011)
amilase	<i>Rhodotorula glacialis</i>	Pati	Carrasco, Villarreal, Barahona, Alcaíno, Cifuentes dkk. (2016)
Selulase	<i>Mrakia blollopis</i>	Pati	Carrasco, Villarreal, Barahona, Alcaíno, Cifuentes dkk. (2016)
glukoamilase	<i>Tetracladium</i> sp	Pati	Carrasco, Villarreal, Barahona, Alcaíno, Cifuentes dkk. (2016)

Pati polisakarida adalah polimer amilosa (polimer linier dari molekul glukosa yang dihubungkan oleh ikatan 1,4-glikosida) dan amilopektin (polimer bercabang dari molekul glukosa yang dihubungkan oleh ikatan 1,6-glikosida). Rantai terdiri atas ratusan hingga ribuan unit glukosa yang membentuk struktur heliks tempat iodin dapat terperangkap. Lehmann (2001) mendeskripsikan bakteri

produsen amilase (amiloglukosidase) dapat menghidrolisis pati menjadi polisakarida yang lebih pendek (dekstrin) dan dipecah kembali menjadi disakarida (maltose) dan monosakarida (glukosa) sebagaimana Gambar 3.1. Monosakarida hasil pemecahan berupa glukosa bebas selanjutnya akan digunakan oleh mikroba sebagai sumber karbon pada proses fermentasi. Mikrob yang diketahui memiliki kemampuan memecah pati dalam ubi kayu, antara lain *Aspergillus fumigatus* KIBGE-IB33, yang memiliki enzim α -amilase dan amiloglukosidase (Pervez dkk., 2014). *Saccharomycopsis fibuligera* DSM-70554 juga diketahui menghasilkan enzim amilolitik, khususnya α -amilase dan glucoamilase untuk memecah pati ubi kayu (Gonzales dkk., 2007). *Bacillus subtilis* strain LB1a and LB5a yang diisolasi dari limbah cair ubi kayu juga diketahui menghasilkan enzim amilase dan protease (Barros dkk., 2013). Beberapa mikroorganisme diketahui berasosiasi dengan limbah cair proses ubi kayu. *B. subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *S. exiguus* positif menghasilkan amilase (Arotupin, 2007). Selain bakteri, yeast diketahui menghasilkan amilase, seperti *Rhodotorula glacialis*, sedangkan *Tetracladium* sp. menunjukkan aktivitas glucoamilase (Carrasco dkk., 2016).

Selain amilase, mikrob yang terlibat dalam fermentasi ubi kayu umumnya diketahui memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase. Enzim selulase bekerja dengan cara memecah ikatan non-kovalen yang ada pada struktur selulosa. Kritalinitas selulosa dipecah menjadi untai amorf oleh enzim endoselulase. Selanjutnya, ujung rantai polimer selulosa dihidrolisis menjadi gula yang lebih kecil oleh enzim eksoselulase menghasilkan disakarida (*cellobiose*) dan tretasakarida (*cellotetraose*). *Cellobiose* dan *cellotetraose* kemudian dihidrolisis menjadi bentuk glukosa oleh enzim β -glucosidase (Gambar 3.2) (Dutton, 2018). *Bacillus pumilus* C11-1 diketahui memiliki aktivitas selulolitik tinggi pada proses fermentasi tepung ubi kayu (Meryandini dkk., 2011). *Aspergillus fumigatus* dan *A. repens*

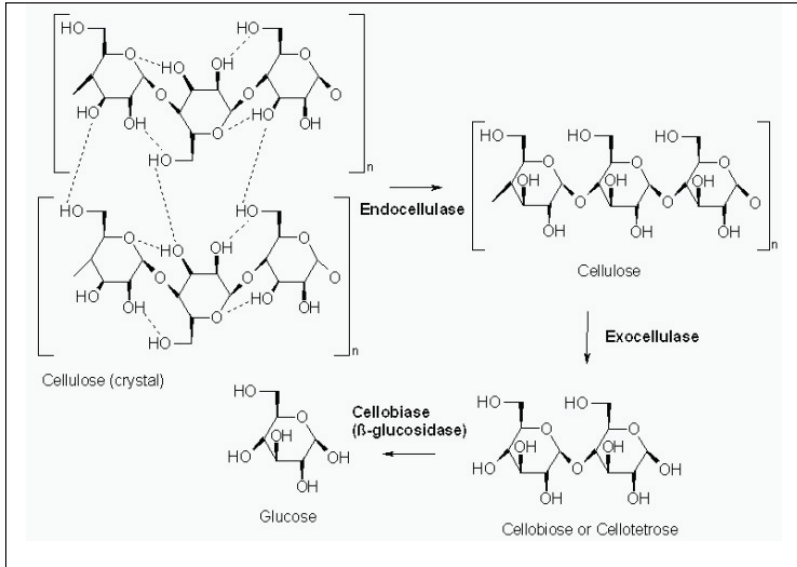


Sumber: Lehmann (2001)

Gambar 3.1 Proses Pemecahan Polisakarida Pati (amilosa) oleh Enzim Amilase Menjadi Maltose dan Glukos.

positif menghasilkan selulase (Arotupin, 2007). *Aspergillus terreus* KJ829487 didapatkan dari kulit ubi kayu yang memiliki kemampuan memproduksi selulase dan silanase konsentrasi tinggi yang sangat efektif dalam menghidrolisis biomassa lignoselulose menjadi gula

Buku ini tidak diperjualbelikan.



Sumber: Dutton (2018)

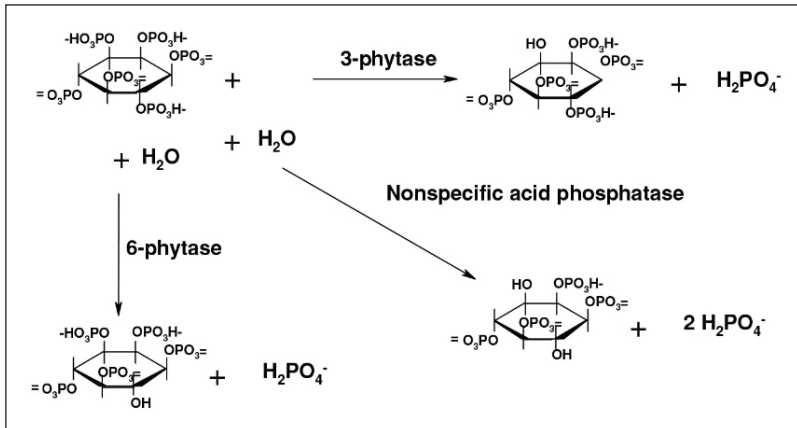
Gambar 3.2 Tahapan Reaksi Pemecahan Selulose oleh Enzim Selulase

terfermentasi (Olanbiwoninu & Odunfa, 2006). Kapang (*yeast*) *Mrakia blollopis* juga diketahui memiliki aktivitas selulase (Carrasco dkk., 2016).

Ubi kayu dikenal sebagai sumber yang baik untuk serat pangan. Fraksi terlarut serat pangan pada ubi kayu terutama terdiri atas *uronic acid* dan polimer glukosa (pektin dan beta-glukan), sedangkan fraksi tidak larut kaya dengan selulosa dan lignin (Infante, García, Rivera, dkk., 2013). Pektinase atau enzim pektinolitik menghidrolisis senyawa pektin. Pektinase diketahui banyak dimiliki bakteri, jamur, dan tanaman. Protopektinase, poligalakturonase, liase, dan pektin esterase adalah enzim pektinolitik yang banyak dipelajari. Enzim-enzim protopektinase mengatalisis proses solubilisasi protopektin. Enzim-enzim poligalakturonase menghidrolisis rantai asam poligalakturonik dengan penambahan air dan merupakan enzim pektinolitik yang banyak ditemukan di antara enzim pektinolitik lain-

nya. Liase mengatalisis ikatan trans-eliminatif pada polimer asam galakturonik. Pektin esterase melepaskan pektin dan metanol dengan de-esterifikasi struktur metil ester dari *backbone* pektin (Jayani, Saxena, & Gupta, 2005).

Selain komponen utama berupa nutrisi, dalam ubi kayu mengandung antinutrien. Teknik pengolahan secara tradisional yang melibatkan proses fermentasi banyak digunakan untuk mengurangi toksisitas ubi kayu dan antinutrien tertentu (Montagnac dkk., 2008). Selama proses fermentasi, mikroba memiliki kemampuan menghasilkan enzim yang dapat memecah antinutrien, seperti asam fitat dan asam sianida (HCN). Asam fitat (*myo-inositol hexaphosphatase*) dikenal sebagai antinutrien yang dapat mengikat mineral penting dan protein sehingga menurunkan kelarutan, kemampuan absorpsi dan pencernaan mineral dan protein dalam tubuh (Požrl, Kopjar, Kurent, Hribar, Janeš, dkk., 2009). Pada proses pengolahan ubi kayu, antinutrien fitat dapat didegradasi dan proses fermentasi merupakan proses yang paling efektif untuk melepaskan fitat hingga 85% (Montagnac dkk., 2009). Enzim fitase dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme yang mendegradasi asam fitat terikat pada ion logam dalam bahan pangan dan pakan. (Moreira dkk., 2014). Enzim fitase spesifik yang bekerja pada proses fermentasi ubi kayu adalah 3- atau 6-fitase yang memecah gugus fosfat pada posisi ketiga atau keenam pada molekul fitat (Montagnac dkk., 2009). Proses pemecahan fitat oleh enzim fitase ditampilkan pada Gambar 3.3. Enzim fitase dapat mendefosforilasi fitat dan melepaskan mineral yang terikat. Enzim 3 dan 6-phytase pertama menghidrolisis molekul pada posisi ketiga dan keenam. Selanjutnya, asam fosfatase yang mungkin ada pada bakteri fermentasi dapat menghidrolisis fosfat pada posisi tidak spesifik (Montagnac dkk., 2009). Khamir *Aspergillus japonicus* URM 5633 diketahui menghasilkan fitase pada substrat ubi kayu (Moreira dkk., 2014). Selain itu, diketahui bakteri asam laktat *L. fermentum* TG-1 dan TG-2 memiliki aktivitas fitase (Damayanti, Ratisiwi, Istiqomah, Sembiring, & Febriasiantosa, 2017).

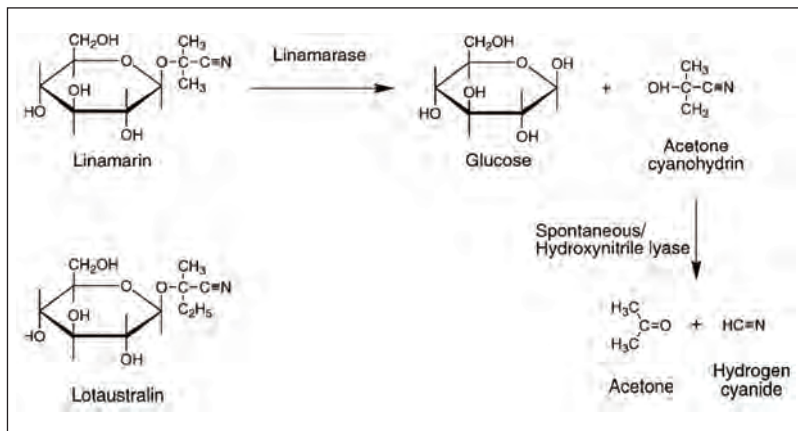


Sumber: Montagnac dkk. (2009)

Gambar 3.3 Proses Pemecahan Fitat oleh Enzim Fitase

Antinutrien ubi kayu lain yang penting untuk direduksi adalah glikosida sianogenik, linamarin, dan lotaustralin. Enzim linamarase, β -D-glucosidase (EC.3.2.1.21) adalah enzim yang mengubah sianida ubi kayu menjadi hidrogen sianida yang lebih mudah larut dalam air atau lepas ke udara. *L. plantarum* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan menghasilkan linamarase sehingga dapat mendetoksifikasi HCN pada ubi kayu (Nwokoro, 2016). Proses pemecahan glikosida sianogenik pada ubi kayu oleh enzim linamarase ditampilkan pada Gambar 3.4.

Gupta, Balomajumder, dan Agarwal (2010) menjelaskan lebih jauh bahwa pada proses selanjutnya, sianida juga dapat diurai lagi oleh sejumlah enzim (Gambar 3.5). Sejumlah mikroorganisme diketahui dapat memanfaatkan sianida sebagai substrat untuk menghasilkan senyawa-senyawa penting, di antaranya alanin, asam glutamat, *alfa-amino-butyric acid*, dan beta-sianoalanin. Enzim yang terlibat dalam pemecahan HCN antara lain *cyanide dehydratase*, *cyanide hydratase*, dan *cyanase*.

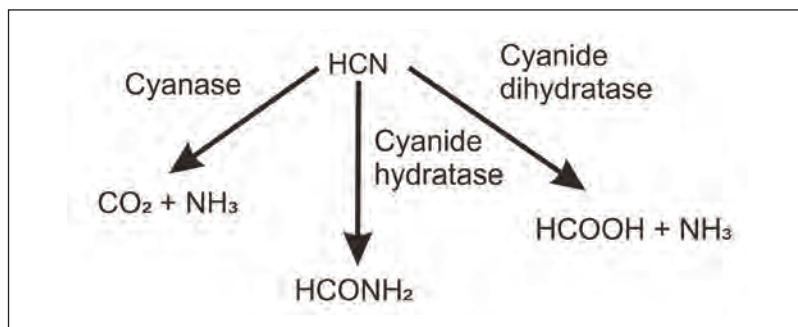


Sumber: Nwokoro (2016)

Gambar 3.4 Pemecahan Glikosida Sianogenik Ubi Kayu oleh Enzim Linamarase.

C. Produk Ubi Kayu Terfermentasi Alami

Ubi kayu umumnya dimanfaatkan segera setelah proses pemanenan guna menghindari kerusakan dan pembusukan, baik dengan cara dikonsumsi langsung, dijual, diekstraksi untuk mendapatkan pati, dikeringkan untuk menjadi tepung, diolah untuk produk pangan, maupun untuk pakan ternak (El Sharkawy, 2004). Metode pengolahan



Sumber: Gupta dkk. (2010)

Gambar 3.5 Reaksi Pemecahan Asam Sianida (HCN) oleh Enzim

ubi kayu menjadi bahan pangan umumnya meliputi beberapa kombinasi tahapan, seperti pengupasan, pencacahan, pemotongan, fermentasi, perebusan, pengeringan, penepungan atau penggilingan, dan pengayakan (Lambri, Fumi, Roda, De Faveri, 2013; Nebiyu & Getachew, 2011).

Di beberapa negara yang menjadikan ubi kayu sebagai makanan utama, proses pengolahan ubi kayu secara tradisional umumnya melibatkan proses fermentasi alami (*indigenous*) (Amoa-Auwa, Frisvad, Sefa-Dedeh, & Jakobsen, 1997; Freire, Ramos, & Schwan, 2015). Proses fermentasi alami secara tradisional sangat ditentukan oleh kebiasaan masyarakat setempat, jenis ubi kayu yang digunakan dan jenis makanan tradisional yang ingin diperoleh. Perbedaan proses ini menentukan jenis mikroba yang terlibat dan kualitas produk akhir yang didapat. Pengolahan ubi kayu secara tradisional dan pengolahan menjadi bahan pangan berpengaruh pada nilai gizi dan sifat fisikokimia ubi kayu (Alamu, Maziya-Dixon, & Dixon, 2017).

Produk-produk makanan tradisional berbasis ubi kayu terfermentasi spontan antara lain *kivunde*, makanan khas Tanzania (Kimaryo, Massawe, Olasupo, & Holzapfel, 2000); *gari*, yaitu bubur ubi kayu yang difermentasi selama tiga hari (Kosnitek, Specht, Edward, Schillinger, Hertel, dkk., 2005; Ojo & Akande, 2013); *agbelima* (Amoa-Awua, Appoh, & Jakobsen, 1996); *foo-foo*, yaitu fermentasi tepung ubi kayu di Afrika Tengah (Brauman, Ke, Malonga, Ampe, 1996); *uyoh* (Ntui & Udom, 2009); *alladjan* (Kakao, Guehi, Olo, Kouame, Nevry, dkk., 2010); *pupuru*, ubi kayu yang difermentasi selama 4–6 hari di Nigeria dan beberapa negara Afrika lain (Oyetayo, 2006); *farinha da mandionca* di Brazil (El Sharkawy, 2004); *lafun* dari Nigeria (Obadina, Oyewole, & Odusami, 2009); *polvilhoazedo*, produk pati ubi kayu difermentasi selama 30 hari dari Brazil; serta *meduame-m-bong* dan *attieke*, produk fermentasi dari Kamerun (Balagopalan, 2002).

Di Indonesia juga terdapat berbagai jenis olahan ubi kayu secara tradisional yang melibatkan proses fermentasi, baik spontan maupun melalui penambahan ragi. Salah satu produk fermentasi ubi kayu adalah tapai singkong (Barus, Kristani, & Yulandi, 2013; Aryanta, 2000). Produk lainnya adalah gaplek, yang merupakan produk setengah jadi dari ubi meliputi proses pengeringan ubi kayu secara alami di bawah panas matahari dengan tujuan memperpanjang masa simpan. Dalam proses pengeringan yang tidak sempurna, produk gaplek berwarna putih sampai putih kekuning-kuningan, berbau agak asam, dan mempunyai kadar air 10–12% (Yulineri dkk., 1997). Makanan khas Indonesia berbasis ubi kayu terfermentasi lainnya adalah gatot (Jayus, Nurhayati, Subagio, & Widyatmoko, 2016). Dalam skripsinya, Astriani (2015) menyebutkan bahwa Gatot merupakan makanan tradisional dari singkong yang diproduksi melalui fermentasi spontan.

Penggunaan ragi dalam produksi pangan fermentasi di atas sebagian besar masih menggunakan ragi yang dibuat secara tradisional secara turun-temurun dari generasi ke generasi dan sangat bergantung pada bahan baku dan mikroorganisme dari lingkungan (Aryanta, 2000). Ragi atau inokulum merupakan istilah umum untuk menyebutkan bahan yang digunakan dalam membantu proses fermentasi dari bahan baku pangan (umbi-umbian dan biji-bijian) menjadi senyawa biokimia lainnya dalam bahan makanan. Ragi mengandung bahan pengisi dan mikrob yang memiliki peran penting dalam proses fermentasi bahan makanan tersebut. Namun, ragi atau inokulum yang diproses secara tradisional tidak dapat diketahui dengan pasti komposisi dan jenis mikrobnnya. Pada perkembangannya, penelitian terkait dengan populasi, komposisi, dan jenis-jenis mikrob yang terlibat dalam fermentasi alami pada pengolahan ubi kayu secara tradisional mulai banyak dilakukan (Oyewole, 1992; Brauman dkk., 1996; Uyoh, Ntui & Udom, 2009; Aryanta, 2000). Penelitian terkait dengan komposisi, jenis mikrob, dan optimalisasi

faktor lingkungan pertumbuhan mikroba dalam inokulum diperlukan untuk mendapatkan produk inokulum dan produk hasil fermentasi menggunakan inokulum tersebut yang memenuhi SNI (Standar Nasional Indonesia).

Salah satu jenis mikroba yang banyak terlibat dalam proses fermentasi ubi kayu secara tradisional adalah bakteri asam laktat (BAL). BAL, khususnya *L. Plantarum*, merupakan bakteri dominan dalam proses fermentasi alami ubi kayu (Kostinek dkk., 2005). Pada *fufu*, produk tepung fermentasi ubi kayu di Afrika, ditemukan BAL *L. plantarum*, *L. buchnerii*, *L. casei* yang memengaruhi produk fermentasi (Fayemi & Ojokoh, 2014). Pada *fufu*, ditemukan juga *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *L. mesenteroides*, *Enterococcus faecium* dan *Weissella cibaria*, serta kapang *Neurospora sitophila* dan *Rhizopus stolonifera* (Tivana, Bvochora, Mutukumira, Owens, & Zvauya, 2007). Mikroba lain yang secara alami ada dalam proses fermentasi ubi kayu *fufu* adalah *Candida krusei*, *C. tropicalis*, *Pichia saitoi*, *S. cerevisiae*, dan *Zygosaccharomyces bali* yang memiliki aktivitas amilolitik (Oyewole, 2001). BAL dapat mencakup 99% dari total mikroba setelah 48 jam proses fermentasi *fufu*, khususnya *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, dan *L. Plantarum*, yang paling mendominasi (Brauman dkk., 1996). Pada *gari*, makanan tradisional dari Afrika, BAL *L. plantarum* adalah spesies yang paling banyak ditemukan, yaitu sejumlah 54,6%, di antara jenis bakteri asam laktat lainnya. Hasil isolasi dan identifikasi dari produk fermentasi ubi kayu *gari* menunjukkan bahwa dari 139 *strain* yang ditemukan, *L. plantarum* adalah spesies yang paling banyak ditemukan yaitu sejumlah 54,6% isolat, diikuti dengan *Leuconostoc fallax* sebesar 22,3%, dan *L. fermentum* sebesar 18,0%. *L. brevis*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, dan *Weissella paramesenteroides* juga ditemukan dalam jumlah sedikit (Kostinek dkk., 2005). Pada proses *agbelima*, *L. plantarum* menjadi spesies BAL yang dominan

selama proses fermentasi sebesar 51% dari 171 isolat yang ada (Amoa-Awua dkk., 1996). Pada proses *kivunde*, makanan khas Tanzania *L. plantarum* digunakan sebagai proses fermentasi spontan (Kimaryo dkk., 2000). Selain perubahan mikrobiologi, perubahan biokimia juga terjadi selama fermentasi antara lain pembentukan asam organik dan betaglucosidase (linamarase) (Kostinek dkk., 2005), perubahan suhu 26–29°C, serta penurunan pH dari 6,1 menjadi 5,6 (Tivana dkk., 2007).

Di Indonesia, meskipun pembuatan tapai dengan menggunakan inokulum, mikrob dari lingkungan dapat mengontaminasi dan tumbuh selama proses fermentasi (Nuraida, 2015). Pada ragi tapai yang dibuat secara tradisional diketahui mengandung mikrob konsorsium yang terdiri atas kapang, khamir, dan bakteri (Aryanta, 2000). Pada *gatot* juga ditemukan BAL jenis *L. manihotivorans* yang bersifat homofermentatif dan *L. fermentum* yang bersifat heterofermentatif (Jayus dkk., 2016). Pada penelitian lain juga ditemukan kapang indigenus, yaitu *Rhizopus oligosporus*, *A. niger*, dan *Trichoderma* sp.; serta empat isolat BAL indigenus, yaitu *L. manihotivorans*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacillus brevis*, dan *L. fermentum* (Astriani, 2015). Hasil isolasi dari makanan tradisional atau spontan berbahan dasar ubi kayu, seperti tiwul, *gatot*, dan tapai, didapatkan setidaknya 11 BAL dan 13 khamir dengan aktivitas amilolitik (Damayanti, Anggraeni, Ichsiyani, Sembiring, & Istiqomah, 2017).

Salah satu produk olahan ubi kayu yang sudah banyak dikembangkan di Indonesia adalah tepung ubi kayu terfermentasi atau *modified cassava flour* (mocaf). Upaya pengembangan mocaf ini dalam rangka mengurangi ketergantungan pada tepung terigu sehingga mampu substitusi penggunaan tepung terigu hingga 50% (Kemenperin, 2012). Untuk itu, diperlukan perbaikan kualitas mocaf melalui proses fermentasi menggunakan inokulum yang menghasilkan karakteristik mocaf yang sesuai dengan SNI 7622-2011.

D. Peran Inokulum untuk Menjamin Standar Kualitas Hasil Fermentasi

Mengacu pada standar SNI 7622-2011 dan WHO (World Health Organization), batas aman ubi kayu untuk konsumsi adalah mengandung HCN maksimal 10 ppm (Cardoso, Mirione, Ernesto, Massaza, Cliff, dkk., 2005). Montagnac, Davis, dan Tanumihardjo (2009) dalam studinya juga menjelaskan bahwa proses yang berbeda dapat menghilangkan kandungan sianogen yang efektivitasnya bergantung pada tahapan proses, urutan, dan lama waktu yang digunakan.

Upaya penurunan kandungan HCN dalam bahan baku ubi kayu, dilakukan melalui pendekatan fisik dan nonfisik. Pendekatan fisik dapat berupa proses perendaman, penumbukan, pencacahan, pemasakan, dan penjemuran atau kombinasinya. Sementara pendekatan nonfisik adalah fermentasi. Kombinasi pendekatan nonfisik dan fisik berupa proses fermentasi alami dan penjemuran ubi kayu dengan matahari diketahui hanya 14% produk tepung ubi kayu yang mengandung HCN kurang dari 10 ppm (Cardoso, Mirione, Ernesto, Massaza, & Cliff, 2005). Penumbukan atau pencacahan diketahui adalah cara paling efektif menghilangkan glikosida sianogenik karena menyebabkan pemecahan sel sehingga terjadi kontak antara linamarin dan enzim linamarase yang mengatalisis pemecahan hidrolitik. Pencacahan dan menjemur di bawah matahari dalam proses penepungan menghilangkan 96–99% total sianogen, sedangkan merendam dan menjemur di bawah matahari, atau merendam dan memfermentasi serta membakar menjadi *gari* dapat menghilangkan 98% HCN dalam bentuk sianogen (Montagnac dkk., 2009). Nebiyu dan Getachew (2011) dalam studinya melaporkan bahwa proses merendam ubi kayu selama minimal 24 jam sebelum proses penjemuran sudah dapat menurunkan kadar HCN hingga 80% akan tetapi masih diperlukan proses pengolahan lebih lanjut agar ubi kayu lebih aman dikonsumsi.

Proses fermentasi ubi kayu dengan menggunakan mikroba memiliki peranan yang sangat penting (Lambri, Fumi, Roda, & De Faveri, 2013). Fermentasi menggunakan inokulum dianggap paling efektif untuk mereduksi kandungan HCN dalam ubi kayu dibandingkan proses fisik. Hal ini dapat dimengerti karena jenis dan komposisi mikroba dalam inokulum dapat diatur sedemikian rupa sehingga reduksi yang diinginkan dapat tercapai. Adamafio, Sakyiamah, dan Tettey (2010) juga menjelaskan melalui proses fermentasi menggunakan inokulum *strain Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus* spp. dapat mereduksi HCN lebih tinggi dibandingkan metode pengeringan, pengukusan, ataupun perebusan tanpa fermentasi. Penelitian lainnya oleh Kimaryo dkk. (2000) menjelaskan kadar sianida pada fermentasi ubi kayu dengan *L. plantarum* pada awal fermentasi sebesar 164,8 ppm menjadi 18,5 dan 2,8 ppm, sedangkan tanpa inokulum kadar HCN 38,1 dan 4,4 ppm selama tiga dan lima hari fermentasi.

Proses fermentasi ubi kayu dari beberapa hasil penelitian, selain dapat mengurangi kadar HCN, diketahui dapat:

1. meningkatkan kandungan riboflavin (Montagnac dkk., 2009)
2. memperbaiki rasa (*flavor*) dan aroma produk ubi kayu menjadi lebih baik (Kostinek dkk., 2005; Freire dkk., 2015)
3. menurunkan kandungan antinutrisi fitat hingga 85,6% (Montagnac dkk., 2009)
4. meningkatkan konsentrasi protein dari 1,3% menjadi 1,8% w/w (Tivana dkk., 2007).
5. meningkatkan keamanan produk melalui penurunan pH dan produksi asam-asam organik (Freire dkk., 2015).

Proses fermentasi mocaf umumnya menggunakan inokulum sebagai sumber enzim pendegradasi substrat ubi kayu. Penggunaan inokulum yang mengandung komposisi dan jenis mikroba yang ter-

identifikasi secara jelas menjadi sangat penting dalam proses fermentasi ubi kayu agar menghasilkan produk mocaf dengan ketentuan standar yang dipersyaratkan.

Inokulum mocaf dapat berasal dari berbagai macam jenis mikrob, baik dari jenis bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, khamir (*yeast*), maupun kapang (*mold*), seperti tertera pada Tabel 3.2. Pada beberapa penelitian, fermentasi mocaf juga dapat menggunakan inokulum dari ragi komersial yang telah tersedia, seperti ragi *tapai*, ragi tempe, ragi roti, bahkan probiotik, seperti yoghurt, juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber inokulum.

Tabel 3.2 Beberapa Jenis Inokulum yang Umum Digunakan pada Proses Pembuatan Mocaf

Spesies	Takaran/Penggunaan	Sumber Referensi
Bakteri Asam Laktat		
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014		
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 11454		
Kultur campuran <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014 dan <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 11454	Takaran penggunaan 0,01 gr/kg ubi kayu, fermentasi 24 jam	Loebis dan Mutia (2012)
Kultur campuran <i>Lactobacillus plantarum</i> (FSb1) dan <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> (FStb4)		
Kultur campuran <i>Lactobacillus plantarum</i> (FSb1) dan <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> (FStb4)		
<i>Lactobacillus</i> sp	Takaran 2 l/500 ml, lama fermentasi 72 jam	Suhery, Halim, dan Lucida (2013)

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Spesies	Takaran/Penggunaan	Sumber Referensi
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Takaran 4 ml/2 kg ubi kayu	Frediansyah, Kurniadi, Nurhikmat, dan Susanto (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 0027	Takaran 5% (v/b), fermentasi 72 jam	Damayanti, Kurniadi, dan Helmi (2015)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Takaran 5%, fermentasi 48 jam	Sugiharta, Hendri, Yuwono, dan Simanjuntak (2016)
<i>Lactobacillus casei</i>	Takaran 1–5 %, fermentasi 72 jam	Darmawan, Andreas, Jos, dan Sumardiono (2013)
<i>L. plantarum</i>	1 g/100 g ubi kayu, fermentasi 120 jam	Gunawan, Widjaja, Zullaikah, Ernawati, Istianah, dkk. (2015)
Bakteri Asam Asetat		
<i>Acetobacter xylinum</i>	Takaran 10–25%, fermentasi 10–40 jam	Nusa, Suarti, dan Alfiah (2012)
Yeast/Khamir		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Takaran 2,0% (w/v), fermentasi 24 jam	Sulistyo, Shya, Mamat, dan Wahab (2016)
Kapang		
<i>Aspergillus oryzae</i>	Fermentasi 24–72 jam	Widiantara, Sutrisno, dan Juliardi (2012)
Inokulum tempe	Fermentasi 24–72 jam	Widiantara, Sutrisno, dan Juliardi (2012)
<i>Rhizopus oligosporus</i>	Fermentasi 24–72 jam	Widiantara, Sutrisno, dan Juliardi (2012)

Spesies	Takaran/Penggunaan	Sumber Referensi
<i>Trichoderma reesei</i>	Fermentasi 24–72 jam	Widiantara, Sutrisno, dan Juliardi (2012)
Kultur Campuran		
FerMo (<i>Lactobacillus</i> sp., BPF, <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Azotobactersp</i> , <i>Rhizobium</i> sp., dan <i>Selulolitik</i> sp.)	5 ml FerMo/3 kg ubi kayu	Shakir, 2013
Starter (<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> dan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Takaran 2%, fermentasi 1–3 hari.	Sulistyo dan Nakahara (2013)
<i>Pediococcus pentosaceus</i> dan <i>Candida tropicalis</i>	Takaran 5%, fermentasi 48 jam	Damayanti, Anggraeni, Ichsiyani, Sembiring, dan Istiqomah (2017)
<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , and <i>Aspergillus oryzae</i>		Kresnowati, Listianingrum , Zaenudin , dan Trihatmoko (2016)
Kultur Produk Komersial		
Yoghurt merek Yummi	Takaran 0,01% bobot ubi kayu	Wulandari dan Mustofa (2014)
Angkak	Takaran 10–22%, fermentasi 3 hari	Allung, Hartini, dan Cahyanti (2016)
Ragi roti (<i>Fermipan</i>) Ragi tempe (Raprima)	Takaran 0,5%, fermentasi 3 hari	Amri dan Pratiwi (2014)
Rapi tapai Bimo-CF	1 kg/1 ton ubi kayu sawut	Yulifianti dan Ginting (2011)

Keterangan: dari berbagai sumber

Berdasarkan pada komposisi mikrob yang terkandung, inokulum mocaf dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu inokulum kultur tunggal (*monoculture*) dan inokulum kultur campuran (*mix culture*). Komposisi inokulum kultur tunggal hanya terdiri atas satu jenis mikrob yang umumnya dalam bentuk kultur murni dan telah diketahui jenis spesiesnya, sedangkan kultur campuran adalah inokulum yang terdiri atas berbagai jenis mikrob dalam satu sediaan. Kultur campuran dapat berupa produk yang telah diketahui spesiesnya atau produk inokulum komersial yang ada di pasar atau berupa campuran dari beberapa jenis mikrob hasil seleksi dan pengujian.

E. Jenis-Jenis Inokulum Mocaf

Inokulum mocaf yang dibahas dalam subbab berikut ini sudah mengacu pada inokulum yang telah diketahui kandungan mikrobnya. Inokulum mocaf dapat dibuat dalam bentuk sediaan cair atau kering (bubuk), baik pada kultur tunggal maupun kultur campuran. Inokulum cair disiapkan dalam medium cair yang diinkubasi selama waktu tertentu dan harus disimpan dalam suhu dingin jika belum digunakan untuk menjaga bakteri tetap hidup dan jumlahnya mencapai jumlah minimum sebagai inokulum (10^7 CFU/ml), sedangkan inokulum kering (bubuk) merupakan inokulum yang dibuat dalam bentuk sediaan bubuk menggunakan alat pengering, baik *spray dryer* maupun oven, dengan penambahan bahan pengisi atau enkapsulan.

Inokulum mocaf yang digunakan untuk kultur tunggal umumnya berupa bakteri asam laktat atau khamir. Kultur dapat berupa kultur murni yang disimpan pusat koleksi mikrob dan telah teridentifikasi nama spesies maupun kemampuannya. Pusat koleksi mikrob yang diketahui banyak menyimpan kultur sumber inokulum di Indonesia antara lain Food and Nutrition Culture Collection (FNCC) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan Indonesian Culture Collection (InaCC) Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Jawa Barat. Pada contoh ini, digunakan kultur

murni *Lactobacillus plantarum* FNCC 0027. Bakteri ini adalah hasil penelitian sebelumnya yang diisolasi dari produk ubi kayu terfermentasi alami (Rahayu, Djaafar, Wibowo, & Sudarmadji, 1996). Bakteri *L. plantarum* FNCC 0027 diketahui memiliki aktivitas amilolitik yang cukup tinggi di antara bakteri asam laktat hasil isolasi oleh Ichsyani, Sembiring, dan Damayanti (2014). Sementara kultur khamir pada contoh digunakan *Saccharomyces cerevisiae* koleksi FNCC. Khamir tersebut juga diketahui memiliki aktivitas amilolitik yang cukup tinggi (Ichsyani dkk., 2014).

Kultur tunggal BAL atau khamir sebagai sumber inokulum mocaf juga dapat diperoleh dari hasil isolasi dan penapisan. Isolasi umumnya dilakukan dari makanan tradisional berbahan dasar ubi kayu yang terfermentasi alami. Bakteri asam laktat dan khamir yang dipilih sebagai sumber inokulum kultur dengan kemampuan amilolitik. Uji aktivitas amilolitik diketahui dengan metode kualitatif dalam medium De Man Rogosa Sharpe (MRS agar) untuk BAL dan Chloramphenicol Yeast Broth (CYB) untuk khamir yang ditambah dengan pati terlarut (*soluble starch*) yang kemudian ditetesi iodine *Iugol's* sebagai indikator aktivitas amilolitik pada medium yang menghasilkan zona jernih dan metode kuantitatif dengan mengukur aktivitas enzim amilase dengan metode *iodine complex*. BAL dan khamir terpilih dengan aktivitas amilolitik tertinggi berdasarkan pada identifikasi molekuler dengan analisis sekuen 16S rRNA merupakan BAL *Pediococcus pentosaceus* G6 yang diisolasi dari gatot dan khamir *Candida tropicalis* Tr7 yang diisolasi dari ragi tapai (Damayanti dkk., 2017). Hasil uji coba penggunaan kultur campuran kedua mikroba sebagai inokulum dalam proses fermentasi mocaf diketahui dapat menurunkan kadar HCN hingga 52,06% lebih baik daripada mocaf tanpa inokulum, yang hanya sebesar 32,32% (Ichsyani dkk., 2014).

Pediococcus pentosaceus merupakan BAL yang umum ditemukan pada produk pangan fermentasi, seperti fermentasi beras, tempe, fermentasi ubi kayu, dan fermentasi sayuran (Suhartatik, Cahyanto,

Rahardjo, Miyashita, & Rahayu, 2014); produk fermentasi berbasis jagung, jewawut, dan sorgum (Adimpong, Nielsen, Sørensen, Derkx, & Jespersen, 2012); *African pearl millet slurries* (Turpin, Humblot, & Guyot, 2011); fermentasi basa pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz), rosela (*Hibiscus sabdariffa*), dan biji kacang locust Afrika (*Parkia biglobosa*), yang berturut-turut untuk membuat produk pangan fermentasi *ntoba mbodi*, *bikalga*, dan *soumbala* (Ouoba, Nyanga-Koumou, Parkouda, Sawadogo, Kobawila, dkk., 2009); makanan terfermentasi *Tanzanian togwa* dari sorgum, jagung, jewawut, dan jagung-sorgum (Mugula, Nnko, Narvhus, & Sørhaug, 2003); serta fermentasi tradisional sorgum (Mohammed, Steenson, & Kirleis, 1991). BAL amilolitik genus *Lactobacillus*, *Pediococcus*, dan *Enterococcus* juga ditemukan pada sorgum terfermentasi (Chahrour, Merzouk, Henni, Haddaji, & Kihal, 2013).

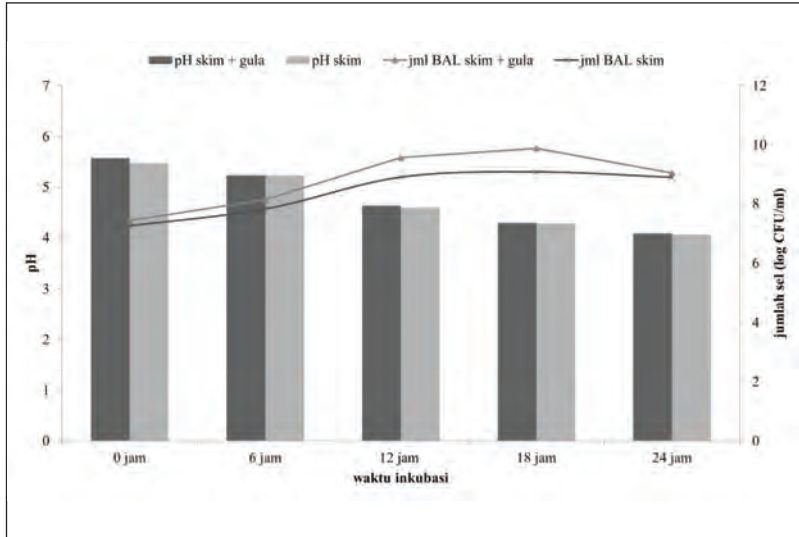
Beberapa penelitian mendapati bahwa *Candida tropicalis* umum ditemukan dan digunakan pada proses fermentasi berbagai jenis bahan pangan karena memiliki kemampuan tertentu. *C. tropicalis* BCC7755 bersifat termotoleran dan digunakan pada proses sakarifikasi fermentasi etanol dari pulp ubi kayu (Rattanachomsri, Tanapongpipat, Eurwilaichitr, & Champreda, 2009). *C. tropicalis* merupakan salah satu khamir dominan yang ditemukan pada makanan fermentasi di Brazil, yaitu *cauim*, yang terdiri atas berbagai substrat, yaitu ubi kayu, beras, jagung, dan kacang (Schwan, Almeida, Souza-Dias, & Jespersen, 2007) serta makanan fermentasi dari *Tanzanian togwa* dari bahan sorgum, jagung, *millet* (Mugula dkk., 2003). *C. tropicalis* dengan aktivitas amilolitik juga ditemukan awal proses awal fermentasi ubi kayu *fufu* bersama dengan khamir *Candida krusei*, *Pichia saitoi*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Zygosaccharomyces balii*. (Oyewole, 2001). Penelitian lain terkait kemampuan khamir *C. tropicalis* pada proses ubi kayu, antara lain, adalah diketahui bahwa *C. tropicalis* yang diisolasi dari *Agbelima*, ubi kayu terfermentasi dari Ghana, Togo, dan Benin yang memiliki

aktivitas selulase, poligalakturonase, dan linamarase yang dapat memecah glikosida sianogenik yang ada pada ubi kayu (Amoa-Auwa dkk., 1997). *C. tropicalis* diketahui juga memiliki enzim α -amylase yang dapat menghidrolisis pati pada ubi kayu atau jagung (Azoulay, Jouanneau, Bertrand, Raphael, Janssens, dkk., 1980). *Candida tropicalis* diketahui memiliki kemampuan degradasi linamarin lebih cepat pada kondisi kultur tunggal (Lei, Amoa-Awua, & Brimer, 1999).

F. Pembuatan Inokulum Mocaf

Sediaan inokulum untuk mocaf dapat dibuat dalam bentuk sediaan kultur cair atau dalam bentuk kultur kering (bubuk). Pada pembuatan kultur cair, tahapan pembuatan diawali dengan penyiapan kultur murni BAL dengan cara menumbuhkan dalam medium MRS Broth atau medium susu skim dengan proses inkubasi pada suhu optimum 37°C selama 24 jam. Media yang digunakan dalam pembuatan inokulum dapat terdiri atas susu skim sebanyak 20% (b/v) dan glukosa 0,2% (b/v). Semua bahan disiapkan dan ditimbang sesuai dengan takaran, dihomogenkan dan dipanaskan dengan menggunakan *hot plate stirrer*, kemudian dipasteurisasi pada suhu 110°C selama 10 menit menggunakan autoklaf. Setelah media dingin, kultur BAL berumur 24 jam dalam medium MRS Broth diinokulasikan ke dalam media inokulum sebanyak 5% (v/v) dan diinkubasi kembali pada suhu optimum 37°C selama 18 jam. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan waktu inkubasi selama 18 jam memperoleh jumlah sel BAL tertinggi sebesar $7,6 \times 10^9$ CFU/ml dengan pH 4,2 seperti ditampilkan pada Gambar 3.5. Inokulum siap digunakan sebagai *starter* dalam proses fermentasi mocaf.

Berdasarkan pada Gambar 3.6, dapat dilihat bahwa penggunaan gula sebagai sumber karbon memberikan pengaruh pada jumlah total BAL pada media pertumbuhan dan pH yang terlihat rendah



Sumber: Damayanti dkk. (2015)

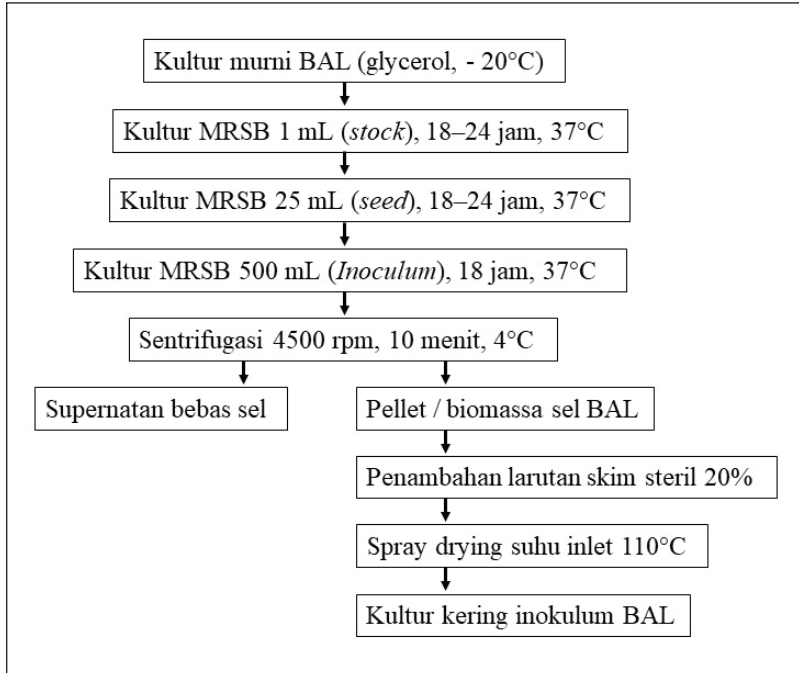
Gambar 3.6 Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* dalam medium susu skim dengan penambahan gula.

dibandingkan tanpa pemberian gula (Damayanti dkk., 2015). Sumber gula tambahan selain glukosa juga dapat bersumber dari sukrosa (gula pasir) yang lebih mudah untuk didapatkan dan tersedia di pasar.

Inokulum cair berupa kultur tunggal khamir dapat disiapkan dalam media Malt Extract Broth (MEB), Yeast Glucose Broth (YGB), atau dapat menggunakan ekstrak kentang yang diperkaya dengan sumber gula seperti dekstrosa atau glukosa yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 24°C. Media inokulum disiapkan dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan setelah media dingin dilanjutkan dengan proses inokulasi kultur khamir sebanyak 5% (v/v) dan diinkubasi pada suhu 24°C selama 24 jam. Pada sediaan cair, inokulum bisa disimpan pada suhu dingin ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) dalam lemari pendingin selama 1–2 minggu sebelum digunakan.

Inokulum dalam bentuk sediaan kering (bubuk) kultur tunggal BAL dibuat dengan menggunakan alat *spray dryer* seperti proses pembuatan produk probiotik sebagaimana hasil penelitian oleh Damayanti dkk. (2013). Kultur BAL diperbanyak untuk mendapatkan biomassa sel dalam jumlah yang cukup tinggi dengan jumlah populasi minimal 10^{10} – 10^{12} cfu/mL kultur. Biomassa BAL yang digunakan adalah biomassa dari inokulum cair yang didapatkan dengan cara mengkultur sebanyak 5% (v/v) BAL dalam medium MRS Broth selama 18 jam pada suhu 37°C. Biomassa sel dipisahkan dari larutan menggunakan proses sentrifugasi berpendingin (4°C) pada kecepatan 4.500 rpm selama 10 menit. Biomassa sel kemudian dilarutkan dalam larutan skim steril 20% (b/v) dan dihomogenkan menggunakan *homogenizer* selama lima menit pada kecepatan 8.000 rpm. Larutan sel BAL dan skim kemudian dibuat kultur kering menggunakan *spray dryer* dengan suhu *inlet* 110°C dan suhu *outlet* 55–60°C. Kultur kering yang didapatkan selanjutnya ditampung dalam plastik steril. Kultur kering hasil *spray drying* ini dapat disimpan pada suhu ruang hingga enam bulan, sedangkan pada suhu dingin (suhu 4°C) di lemari pendingin dapat disimpan hingga satu tahun dengan jumlah sel 10^7 – 10^8 CFU/gram. Tahapan proses pembuatan kultur kering BAL dengan *spray dryer* ditampilkan pada Gambar 3.7.

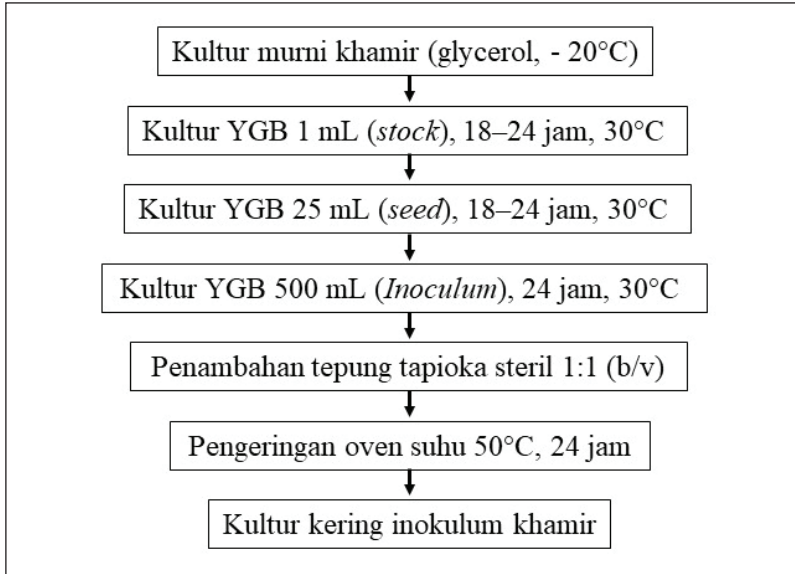
Inokulum khamir dalam bentuk sediaan kering dibuat dengan teknik yang lebih mudah, yaitu menggunakan pengeringan menggunakan oven dengan media pengisi berupa tepung tapioka yang mengacu pada metode Nurfiana (2017) dengan modifikasi. Kultur murni khamir sebanyak 5% (v/v) ditumbuhkan dalam medium YGB pada suhu 30°C selama 24 jam secara berulang dengan volume yang terus dinaikkan hingga menjadi inokulum dengan populasi minimal 10^8 CFU/mL. Inokulum khamir yang telah siap kemudian ditambah dengan bahan pengisi berupa tepung tapioka steril dengan perbandingan antara volume inokulum dan tepung tapioka sebesar



Gambar 3.7 Proses pembuatan kultur kering BAL dengan *spray drying*.

1:1 (v/b). Campuran inokulum dan tepung tapioka dihomogenkan dengan cara diaduk, kemudian ditempatkan dalam wadah cawan steril dan dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga kering atau sekitar 24 jam. Proses pembuatan kultur kering khamir dengan metode pengeringan oven ditampilkan pada Gambar 3.8.

Inokulum mocaf dalam bentuk kultur kering campuran BAL dan khamir dibuat dengan cara mencampurkan keduanya dengan perbandingan 1:1. Kultur campuran ditambah dengan susu skim dan tepung tapioka sebagai bahan pengisi dan dapat disimpan dalam suhu dingin ataupun suhu ruang selama belum digunakan dan dapat bertahan selama 6–12 bulan dengan jumlah sel hidup antara BAL



Gambar 3.8 Proses pembuatan kultur kering khamir dengan pengeringan oven.

dan khamir masing-masing sebesar 10^7 CFU/gram sesuai dengan syarat minimal sel hidup sebagai inokulum.

G. Aplikasi Inokulum pada Proses Fermentasi Mocaf

Aplikasi inokulum kultur campuran BAL berupa kultur *Pediococcus pentosaceus* G6 dan khamir *Candida tropicalis* Tr7 pada proses pembuatan mocaf cukup mudah, dengan cara melarutkan inokulum sebanyak 15 gram ke dalam air sebanyak 1 liter, didiamkan pada suhu ruang minimal 6–12 jam, kemudian digunakan untuk proses fermentasi sebanyak 100 kg ubi kayu selama 12–48 jam. Tabel 3.3 menampilkan data uji proses fermentasi ubi kayu dilakukan dalam dua perlakuan, yaitu dengan penggunaan inokulum dan tanpa inokulum selama perendaman 48 jam.

Tabel 3.3 Parameter Fermentasi Ubi Kayu dengan dan Tanpa Inokulum Campuran BAL dan Khamir

Waktu perendaman (jam)	Total bakteri asam laktat (\log_{10} CFU/ml)		Total <i>coliform</i> (\log_{10} CFU/ml)		pH		Suhu ($^{\circ}$ C)	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0	6,90 \pm 0,02 ^b	0,00 \pm 0,00 ^a	4,75 \pm 0,05 ^a	4,84 \pm 0,06 ^a	6,49	7,02	28,00	28,00
12	8,34 \pm 0,02 ^d	7,87 \pm 0,56 ^c	6,53 \pm 0,14 ^d	6,80 \pm 0,05 ^e	4,42	4,45	28,33	28,00
24	8,79 \pm 0,12 ^{ef}	8,53 \pm 0,06 ^{de}	7,19 \pm 0,05 ^f	8,16 \pm 0,05 ^g	4,36	4,39	29,00	28,33
36	8,97 \pm 0,06 ^f	8,25 \pm 0,17 ^d	6,93 \pm 0,03 ^e	7,18 \pm 0,22 ^f	4,28	4,34	29,33	29,00
48	8,55 \pm 0,39 ^{de}	6,93 \pm 0,24 ^b	5,76 \pm 0,11 ^b	6,28 \pm 0,05 ^c	4,25	4,30	29,67	29,00

Keterangan: A: dengan penambahan inokulum, B: tanpa penambahan inokulum. Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata, huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($p > 0,05$).

Sumber: Ichsyani (2014)

Berdasarkan pada pengujian proses fermentasi ubi kayu pada Tabel 3.2, diketahui penggunaan inokulum menghasilkan jumlah total bakteri asam laktat yang lebih tinggi, kandungan total bakteri patogen *coliform* yang lebih rendah, pH yang lebih asam, dan suhu yang sedikit lebih tinggi dibandingkan proses fermentasi tanpa inokulum selama perendaman 48 jam. Seperti diketahui, *coliform* merupakan kelompok bakteri patogen pencemar bahan pangan yang keberadaannya harus diminimalisasi.

Parameter lain yang diukur dari proses fermentasi ubi kayu adalah kadar sianida (HCN). Ubi kayu yang digunakan adalah ubi kayu segar varietas Markonah dengan warna kulit cokelat tua dan daging umbi berwarna putih dengan kandungan kadar HCN sebesar

289,575 ppm. Kandungan HCN diukur pada masa sebelum dan setelah fermentasi (telah menjadi tepung). Kandungan HCN ubi kayu diukur dari perlakuan fermentasi, yaitu rendaman yang diberi inokulum dan tanpa inokulum yang secara signifikan menurun ($p < 0,05$) dibandingkan kandungan HCN ubi kayu segar (Tabel 3.4).

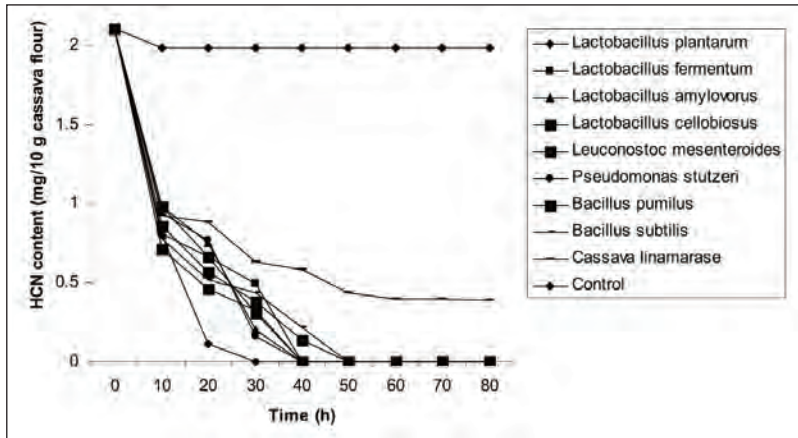
Tabel 3.4 Kandungan HCN pada Proses Pembuatan Mocaf dengan dan Tanpa Inokulum

Kondisi fermentasi	Kadar HCN (ppm)		Penurunan HCN (%)
	Sebelum fermentasi (<i>chips</i>)	Setelah fermentasi (tepung)	
Inokulum	157,64±18,77 ^c	75,57±3,87 ^a	52,06±3,69
Tanpa inokulum	115,49±31,94 ^b	78,16±8,19 ^a	32,32±11,54

Keterangan: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata, huruf yang sama menunjukkan perbedaan tindakan signifikan ($p > 0,05$).

Sumber: Ichsyani, 2014

Tabel 3.4 menunjukkan bahwa penggunaan inokulum pada proses fermentasi ubi kayu menghasilkan penurunan HCN lebih tinggi dibandingkan tanpa inokulum. Kadar akhir sianida pada mocaf selain dipengaruhi oleh varietas ubi kayu juga dipengaruhi oleh jenis mikrob yang digunakan. Penggunaan inokulum kultur tunggal *L. plantarum* FNCC 0027 menghasilkan penurunan kandungan HCN hingga sebesar 91,11% (Damayanti dkk, 2015), sedangkan penggunaan kultur tunggal dan campuran memberikan penurunan kadar sianida yang berbeda (Lambri dkk, 2013). Penggunaan kultur tunggal *S. cerevisiae* menurunkan kadar sianida 65,9%, *L. plantarum* V22 sebesar 50,9%, dan *Oenococcus oeni* sebesar 55,1%, sedangkan kultur campuran ketiganya sebesar 34,2%. Kostinek dkk. (2008) menambahkan penggunaan dua strain *Lactobacillus* yaitu *Lactobacillus plantarum* BFE 6710 dan *L. fermentum* BFE 6620 selama 48 jam fermentasi, menghasilkan jumlah BAL 1–2 Log₁₀ lebih tinggi



Sumber: Nwokoro (201)

Gambar 3.9 Perbandingan Penurunan HCN Ubi Kayu dengan Penambahan Bakteri yang Menghasilkan Enzim Linamarase.

dibandingkan kontrol yang tidak diinokulasi dengan BAL. Penelitian lain oleh Nwokoro (2016) mengungkapkan bahwa penggunaan bakteri asam laktat yang menghasilkan enzim linamarase dapat menurunkan kandungan HCN pada ubi kayu dibandingkan tanpa penggunaan bakteri (Gambar 3.9)

Selain proses fermentasi, proses pengolahan ubi kayu dapat mengurangi kadar sianida antara lain perendaman, fermentasi dan penjemuran. Lambri dkk. (2013) dalam studinya melaporkan bahwa proses fermentasi yang berlangsung selama 48 jam dengan kadar sianida awal 300 mg/kg berat kering dengan proses pengeringan suhu 60°C selama delapan jam, terjadi penurunan kadar sianida awal lebih dari 90%. Adamafio dkk. (2010) juga menyatakan bahwa proses fermentasi mikrob akan menghasilkan enzim linamarase, hidrosilnitrileliase, dan sianidahidratase yang mengatalis secara berurutan glikosida sianogenik menjadi HCN kemudian diubah menjadi formamida yang selanjutnya digunakan oleh mikrobia tersebut sebagai sumber nitrogen dan karbon, sehingga kandungan HCN pada produk ubi kayu akan berkurang.

G. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Optimalisasi Fermentasi Mocaf (Catatan Penutup)

Berdasarkan pada deskripsi di atas, banyak faktor yang harus diperhatikan dalam mengoptimalkan proses pembuatan mocaf dengan menggunakan inokulum agar menghasilkan mocaf terstandar. Untuk mengoptimalkan produk akhir hasil fermentasi mocaf, perlu diketahui faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi dalam pembuatan mocaf.

1. Jenis inokulum. Loebis dan Meutia (2012) dalam studinya menyebutkan bahwa penggunaan berbagai macam jenis spesies BAL, yaitu *L. plantarum* dan *Lactococcus lactis*, serta campuran komposisi BAL pada lima jenis inokulum mocaf berpengaruh pada kadar protein, lemak, serat, karbohidrat, dan pati pada produk akhir. Pada penelitian lain, pembuatan mocaf dengan berbagai macam jenis inokulum kapang, yaitu *A. oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, inokulum tempe, dan *Trichoderma reesei*, menghasilkan parameter warna, rasa sebagai uji sensorik, kadar air, kadar serat, kadar tepung, dan kadar dekstrin, sebagai parameter kimia, serta respons fisik yang berbeda. Terdapat interaksi antar-spesies mikroba dan lamanya waktu fermentasi yang berpengaruh secara signifikan terhadap warna, kadar tepung, tetapi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar kelembapan dan kadar serat (Widiantara, Sutrisno, & Julardi, 2012). Saat ini, sudah tersedia berbagai jenis inokulum mocaf yang dapat digunakan. Aspek yang diperhatikan dalam pemilihan inokulum berkualitas adalah komposisi mikrobnya apakah berupa kultur tunggal atau campuran, jenis mikroba yang digunakan, kandungan sel hidup, prosedur penyimpanannya dan penggunaan.
2. Konsentrasi inokulum. Penggunaan konsentrasi inokulum yang berbeda menghasilkan karakteristik mocaf yang berbeda pula.

Penelitian Tefera, Ameha, dan Biruhtesfa (2014) menyebutkan bahwa penggunaan *S. cerevisiae*, *L. plantarum*, dan *Leuconostoc mesenteroides* pada level inokulum berbeda, yaitu 0,25 ml, 0,50 ml, dan 0,75 ml menghasilkan penurunan pH, kadar protein, dan sianida yang berbeda. Pada penelitian lain, penggunaan inokulum sebesar 1, 3, dan 5% juga berpengaruh terhadap kandungan protein dan kelarutan pati mocaf, yaitu terbaik pada konsentrasi inokulum sebesar 5% (Darmawan dkk., 2013). Dalam penelitian lain, penggunaan inokulum mocaf pada level 10, 12, 20, dan 25% berpengaruh pada rendemen, kadar pati, dan tekstur mocaf dengan hasil terbaik pada penggunaan inokulum 25% (Nusa, Suarti, & Alfiah, 2012).

3. Lama fermentasi. Dalam kajian oleh Widiantara dkk. (2012), lama fermentasi antara 24 jam, 48 jam, dan 72 jam pada proses pembuatan mocaf dengan menggunakan inokulum kapang menghasilkan produk mocaf terbaik pada lama fermentasi 48 jam. Pada penelitian lain, pembuatan mocaf dengan lama fermentasi 10, 20, 30, dan 40 jam menghasilkan rendemen, kadar pati, dan tekstur berbeda dengan hasil terbaik ketiga parameter didapat pada lama fermentasi 48 jam (Nusa dkk., 2012). Higienitas proses fermentasi juga harus mendapatkan perhatian, terutama pada proses pencucian bahan baku ubi kayu dan penggunaan sumber air bersih pada proses fermentasi *chips* ubi kayu.
4. Varietas ubi kayu. Berdasarkan pada hasil penelitian Amanu dan Susanto (2014), diketahui bahwa jenis ubi kayu yang berbeda, khususnya pada varietas Mentega dan Karet, yang berasal dari empat lokasi penanaman yang berbeda menghasilkan mocaf dengan kualitas yang berbeda walaupun difermentasi dengan inokulum yang sama, yaitu *Lactobacillus*. Bahan baku ubi kayu yang baik adalah ubi kayu segar, kandungan pati tinggi dan HCN di bawah 200 ppm.

5. Penambahan nutrisi tertentu. Studi yang dilakukan oleh Damayanti, Kurniadi, dan Helmi (2015) diketahui bahwa penambahan sumber gula, khususnya glukosa, dalam fermentasi ubi kayu diketahui dapat meningkatkan jumlah sel bakteri asam laktat dalam starter, meningkatkan kandungan karbohidrat, dan menurunkan kadar HCN pada produk hasil fermentasi. McLeod dkk. (2017) menyatakan, sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri, glukosa ditambahkan dengan tujuan mempercepat dan meningkatkan proses fermentasi meskipun dalam bahan baku tertentu sudah mengandung glukosa dalam kadar yang rendah. Penelitian lain oleh Sumarno dan Damayanti (2006) menyebutkan, sumber gula berupa laktosa ditambahkan untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat dan mempercepat proses fermentasi sari buah mengkudu dan sari kedelai. Carrasco dkk. (2016) mengatakan bahwa *Rhodotorula glacialis* memiliki aktivitas amilase, *Mrakia blollopis* memiliki aktivitas selulase, sedangkan *Tetracladium* sp. menunjukkan aktivitas glukamilase. Ketiga isolat *yeast* dapat tumbuh dalam medium *soluble starch* atau karboksimetil selulose sebagai sumber karbon tunggal. Dari keseluruhan jenis *yeast*, aktivitas amilase dan selulase lebih tinggi ketika dikultur dalam medium yang disuplementasi dengan glukosa dibandingkan *soluble starch* atau karboksimetil selulose.
6. Ketebalan *chips* ubi kayu. Darmawan dkk. (2013) dalam studinya menyebutkan bahwa ketebalan *chips* ubi kayu yang berbeda, yaitu 2, 4, dan 6 mm, dalam proses mocaf menghasilkan kualitas mocaf yang berbeda, khususnya pada kandungan protein dan kelarutan pati. Kandungan protein dan kelarutan pati terbaik dengan mocaf menggunakan inokulum didapatkan pada ketebalan *chips* 2 mm.

Daftar Pustaka

- Achi, O. K., & Akomas, N. S. (2006). Comparative assessment of fermentation techniques in the processing of fufu, a traditional fermented cassava product. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(3), 224–229.
- Adamafo, N. A., Sakyiamah, M., & Tettey, J. (2010). Fermentation in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) pulp juice improves nutritive value of cassava peel. *African Journal of Biochemistry Research*, 4(3), 51–56.
- Adegunwa, M. O., Sanni, L. O., & Maziya-Dixon, B. (2011). Effects of fermentation length and varieties on the pasting properties of sour cassava starch. *African Journal of Biotechnology*, 10(42), 8428–8433.
- Adimpong, D. B., Nielsen, D. S., Sørensen, K. I., Derkx, P. M., & Jespersen, L. (2012). Genotypic characterization and safety assessment of lactic acid bacteria from indigenous African fermented food products. *BMC microbiology*, 12(1), 75.
- Akindahunsi, A. A., Oboh, G., & Oshodi, A. A. (1999). Effect of fermenting cassava with *Rhizopus oryzae* on the chemical composition of its flour and Gari products. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 76, 437–440.
- Alamu, E. O., Maziya-Dixon, B., & Dixon, A. G. (2017). Evaluation of proximate composition and pasting properties of high quality cassava flour (HQCF) from cassava genotypes (*Manihot esculenta* Crantz) of β -carotene-enriched roots. *LWT*, 86, 501–506.
- Allung, M. N. W. (2016). Optimasi gizi mocaf merah ditinjau dari berbagai konsentrasi angkak (*Seminar Nasional Sains dan Entrepreneurship III 2016*). Semarang, 20 Agustus 2016.
- Amanu, F. N., & Susanto, W. H. (2014). Pembuatan tepung mocaf di madura (kajian varietas dan lokasi penanaman) terhadap mutu dan rendemen. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3), 161–169.
- Amoa-Awua, W. K. A., Appoh, F. E., & Jakobsen, M. (1996). Lactic acid fermentation of cassava dough into agbelima. *International Journal of Food Microbiology*, 31(1–3), 87–98.
- Amoa-Awua, W. K., Frisvad, J. C., Sefa-Dedeh, S., & Jakobsen, M. (1997). The contribution of moulds and yeasts to the fermentation

- of 'agbelima'cassava dough. *Journal of Applied Microbiology*, 83(3), 288–296.
- Amri, E., & Pratiwi, P. (2015). Pembuatan mocaf (modified cassava flour) dengan proses fermentasi menggunakan beberapa jenis ragi. *Jurnal Pelangi*, 6(2), 182–191.
- Arotupin, D. J. (2007). Evaluation of microorganisms from cassava waste water for production of amylase and cellulase. *Research Journal of Microbiology*, 2(5), 475–480.
- Aryanta, W. R. (2000). Traditional fermented foods in Indonesia. *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria*, 10(2), 90–102.
- Astriani. (2015). *Karakterisasi gatot terfermentasi oleh isolat indigenus gatot singkong (Rhizopus oligosporus dan Lactobacillus manihotivorans)* (Skripsi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember).
- Azoulay, E., Jouanneau, F., Bertrand, J. C., Raphael, A., Janssens, J., & Lebeault, J. M. (1980). Fermentation methods for protein enrichment of cassava and corn with *Candida tropicalis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39(1), 41–47.
- Balagopalan, C. (2002). Cassava utilization in food, feed and industry. *Cassava: Biology, production and utilization*, 301–318. Diakses pada 24 Agustus 2018 dari <https://www.dictionary.com/cgi-bin/dict.pl?term=Balagopalan>.
- Barros, F. F. C., Simiqueli, A. P. R., de Andrade, C. J., & Pastore, G. M. (2013). Production of enzymes from agroindustrial wastes by biosurfactant-producing strains of *Bacillus subtilis*. *Biotechnology Research International*, 2013.
- Barus, T., Kristani, A., & Yulandi, A. (2013). Short communication diversity of amylase-producing *Bacillus* spp. from “tape” (fermented cassava). *HAYATI Journal of Biosciences* 20(2), 94–98.
- BPS. (2019). Produksi ubi kayu menurut provinsi (ton), 1993–2015. Diakses pada 30 Maret 2019 dari <https://www.bps.go.id/link-TableDinamis/view/id/880>.
- Brauman, A., Keleke, S., Malonga, M., Miambi, E., & Ampe, F. (1996). Microbiological and biochemical characterization of cassava retting, a traditional lactic Acid fermentation for foo-foo (cassava flour) production. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(8), 2854–2858.

- Cardoso, A. P., Mirione, E., Ernesto, M., Massaza, F., Cliff, J., Haque, M. R., & Bradbury, J. H. (2005). Processing of cassava roots to remove cyanogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(5), 451–460.
- Carrasco, M., Villarreal, P., Barahona, S., Alcaíno, J., Cifuentes, V., & Baeza, M. (2016). Screening and characterization of amylase and cellulase activities in psychrotolerant yeasts. *BMC microbiology*, 16(1), 21.
- Chahrour, W., Merzouk, Y., Henni, J. E., Haddaji, M., & Kihal, M. (2013). Screening and identification of lactic acid bacteria isolated from sorghum silage processes in west Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 12(14), 1703–1709.
- Damayani, E., & Sumarno, L. (2006). Kultivasi bakteri asam laktat dalam media fermentasi campuran sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan susu kedelai. *Jurnal Widya Riset LIPI* 9(3), 71–81.
- Damayanti, E., Anggraeni, A. S., Ichsiyani, M., Sembiring, L., & Istiqomah, L. (2017). Yeast and lactic Acid bacteria with amyolytic activity as a starter on cassava fermentation. Dipresentasikan pada The 4th International Seminar, Congress and Workshop Indonesian Protein Society, Universitas Jember, 8–9 November 2017. Tidak dipublikasikan.
- Damayanti, E., Kurniadi, M., & Helmi, R. L. (2015). Optimasi fermentasi mocaf dengan starter *Lactobacillus plantarum* FNCC 0027 dan pengaruhnya pada penurunan kadar sianida. Makalah disampaikan pada sesi poster Kongres Ilmu Pengetahuan Nasional (KIPNAS) XI di Jakarta 8–9 Oktober 2015, kerja sama LIPI dengan Kemenristek. Tidak dipublikasikan.
- Damayanti, E., Ratsiwi, F. N., Istiqomah, L., Sembiring, L., & Febrisiantosa, A. (2017a). Phytate degrading activities of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented food. *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1823, No. 1, p. 020053). AIP Publishing LLC.
- Damayanti, E., Sakti, A. A., Karimy, M. F., Herdian, H., Julendra, H., Sofyan, A. & Istiqomah, L. (2013). Penapisan bakteri asam laktat asal rumen sapi dan kambing sebagai probiotik dan viabilitasnya selama proses *spray drying* dan penyimpanan. *Prosiding Seminar Paparan IPT*, diselenggarakan oleh Kedeputian IPT LIPI, Yogyakarta, 3 Oktober 2013.

- Darmawan, M. R., Andreas, P., Jos, B., & Sumardiono, S. (2013). Modifikasi ubi kayu dengan proses fermentasi menggunakan starter *Lactobacillus casei* untuk produk pangan. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2(4), 137–145.
- Dutton, J. A. (2018). The reaction of cellulose: Cellulolysis. Diakses pada 16 Desember 2019 dari <https://www.e-education.psu.edu/egee439/node/669>.
- El-Sharkawy, M. A. (2003). Cassava biology and physiology. *Plant Molecular Biology*, 53(5), 621–641.
- FAO. (2016). Food outlook, biannual report on global food markets. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- Fayemi, O. E., & Ojokoh, A. O. (2014). The effect of different fermentation techniques on the nutritional quality of the cassava product (fufu). *Journal of food processing and preservation*, 38(1), 183–192.
- Frediansyah, A., Kurniadi, M., Nurhikmat, A., & Susanto, A. (2012). Improving quality of mocaf (modified cassava flour) by bioprosess using *Lactobacillus plantarum* and its utility for foodstuff. *Proceeding of International Seminar Enhancing Grassroots Innovation Competitiveness for Poverty Alleviation (EGICPA)*. Yogyakarta, Indonesia, 16–18th October 2012, 140–145.
- Freire, A. L., Ramos, C. L., & Schwan, R. F. (2015). Microbiological and chemical parameters during cassava based-substrate fermentation using potential starter cultures of lactic acid bacteria and yeast. *Food Research International*, 76, 787–795.
- González, C. F., Fariña, J. I., & de Figueroa, L. I. C. (2008). Optimized amyolytic enzymes production in *Saccharomycopsis fibuligera* DSM-70554: An approach to efficient cassava starch utilization. *Enzyme and Microbial Technology*, 42(3), 272–277.
- Gupta, N., Balomajumder, C., & Agarwal, V. K. (2010). Enzymatic mechanism and biochemistry for cyanide degradation: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 176(1–3), 1–13.
- Husniati, H., & Widhyastuti, N. (2013). Perbaikan mutu tepung singkong melalui teknologi fermentasi untuk menghasilkan tepung mocaf. *Indonesian Journal of Industrial Research*, 7(1), 25–33.

- Ichsyani, M., Sembiring, L., & Damayanti, E. (2014). *Screening aktivitas amilolitik isolat khamir dan bakteri asam laktat pada ubi kayu (Manihot esculenta Crantz) terfermentasi sebagai upaya penurunan kadar asam sianida (HCN)*. (Skripsi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta).
- Infante, B., García, O., & Rivera, C. (2013). Characterization of dietary fiber and pectin of cassava bread obtained from different regions of Venezuela. *Revista chilena de nutrición*, 40(2), 169–173.
- Jayani, R. S., Saxena, S., & Gupta, R. (2005). Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, 40(9), 2931–2944.
- Jayus, Nurhayati, Subagio, A., & Widyatmoko, H. (2016). Modifikasi pati ubi kayu secara fermentasi dengan *Lactobacillus manihotivorans* dan *L. fermentum* yang diisolasi dari Gatot. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*, 517–522.
- Kakou, A. C., Tagro Guehi, S., Olo, K., Akissi Kouame, F., Koffi Nevry, R., & Marina Koussemon, C. (2010). Biochemical and microbial changes during traditional spontaneous lactic acid fermentation process using two varieties of cassava for production of a “alladjan” starter. *International Food Research Journal*, 17, 563–573.
- Kemenperin. (2012). Industri tepung pacu investasi pabrik mocaf. Diakses pada 30 Maret 2018 dari <http://agro.kemenperin.go.id/1016-INDUSTRI-TEPUNG-Pacu-investasi-pabrik-mocaf>.
- Kimaryo, V. M., Massawe, G. A., Olasupo, N. A., & Holzapfel, W. H. (2000). The use of a starter culture in the fermentation of cassava for the production of “kivunde”, a traditional Tanzanian food product. *International Journal of Food Microbiology*, 56(2–3), 179–190.
- Kostinek, M., Specht, I., Edward, V. A., Schillinger, U., Hertel, C., Holzapfel, W. H., & Franz, C. M. (2005). Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria from fermented cassava used for the preparation of Gari, a traditional African food. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(6), 527–540.
- Kresnowati, M. T. A. P., Listianingrum, Zaenudin, A., & Trihatmoko, K. (2015, December). The effect of microbial starter composition on cassava chips fermentation for the production of fermented cassava flour. *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1699, No. 1, p. 030002). AIP Publishing LLC.

- Lambri, M., Fumi, M. D., Roda, A., & De Faveri, D. M. (2013). Improved processing methods to reduce the total cyanide content of cassava roots from Burundi. *African Journal of Biotechnology*, 12(19), 2685–2691.
- Lehmann, C. (2001). *Hydrolytic enzymes: amylases, proteases, lipases*. Diakses pada 16 Desember 2019 dari https://www.researchgate.net/publication/240623142_Hydrolytic_Enzymes_Amylases_Proteases_Lipases.
- Lei, V., Amoa-Awua, W. K. A., & Brimer, L. (1999). Degradation of cyanogenic glycosides by *Lactobacillus plantarum* strains from spontaneous cassava fermentation and other microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 53(2–3), 169–184.
- Loebis, E. H., & Meutia, Y. R. (2012). Pembuatan starter mocaf termobilisasi dari isolat bakteri asam laktat dan aplikasinya pada proses produksi mocaf. *Jurnal Hasil Penelitian Industri*, 25(1), 35–47.
- Masniah & Yusuf. (2013). Potensi ubi kayu sebagai pangan fungsional. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*, 581–587.
- McLeod, A., Mosleth, E. F., Rud, I., dos Santos, F. B., Snipen, L., Liland, K. H., & Axelsson, L. (2017). Effects of glucose availability in *Lactobacillus sakei*: metabolic change and regulation of the proteome and transcriptome. *PloS one*, 12(11), 1–20.
- Meryandini, A., Melani, V., & Sunarti, T. C. (2011). Addition of cellulolytic bacteria to improved the quality of fermented cassava flour. *African Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 030–035.
- Mohammed, S. I., Steenson, L. R., & Kirleis, A. W. (1991). Isolation and characterization of microorganisms associated with the traditional sorghum fermentation for production of Sudanese kiswa. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(9), 2529–2533.
- Montagnac, J. A., Davis, C. R., & Tanumihardjo, S. A. (2009). Processing techniques to reduce toxicity and antinutrients of cassava for use as a staple food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(1), 17–27.

- Moreira, K. A., Herculano, P. N., Maciel, M. H. C., Porto, T. S., Spier, M. R., Souza-Motta, C. M., & Soccoi, C. R. (2014). Optimization of phytase production by *Aspergillus japonicus* Saito URM 5633 using cassava bast as substrate in solid state fermentation. *African Journal of Microbiology Research*, 8(9), 929–938.
- Morgan, N. K., & Choct, M. (2016). Cassava: Nutrient composition and nutritive value in poultry diets. *Animal Nutrition*, 2(4), 253–261.
- Mugula, J. K., Nnko, S. A. M., Narvhus, J. A., & Sørhaug, T. (2003). Microbiological and fermentation characteristics of togwa: A Tanzanian fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 80(3), 187–199.
- Nebiyu, A., & Getachew, E. (2011). Soaking and drying of cassava roots reduced cyanogenic potential of three cassava varieties at Jimma, Southwest Ethiopia. *African Journal of Biotechnology*, 10(62), 13465–13469.
- Nhassico, D., Muquingue, H., Cliff, J., Cumbana, A., & Bradbury, J. H. (2008). Rising African cassava production: Diseases due to high cyanide intake and control measures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(12), 2043–2049.
- Nuraida, L. (2015). A review: Health promoting lactic acid bacteria in traditional Indonesian fermented foods. *Food Science and Human Wellness*, 4(2), 47–55.
- Nurfiana, D. A. (2017). *Pengembangan inokulum kering Lactobacillus plantarum hl 15 dengan metode pengering oven untuk fermentasi biji kakao*. (Skripsi Fakultas Teknologi Pangan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta).
- Nusa, M. I., Suarti, B., & Alfiah. (2012). Pembuatan tepung mocaf melalui penambahan starter dan lama fermentasi (modified cassava flour). *Agrium: Jurnal Ilmu Pertanian*, 17(3), 210–217.
- Nwokoro, O. (2016). Linamarase production by some microbial isolates and a comparison of the rate of degradation of cassava cyanide by microbial and cassava linamarases. *Hemijiska industrija*, 70(2), 129–136.
- Nwokoro, O., & Anya, F. O. (2011). Linamarase enzyme from *Lactobacillus delbrueckii* NRRL B-763: Purification and some properties

- of a β -glucosidase. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 55(4), 246–250.
- Nzwalo, H., & Cliff, J. (2011). Konzo: From poverty, cassava, and cyanogen intake to toxico-nutritional neurological disease. *PLoS neglected tropical diseases*, 5(6), 1–8.
- Obadina, A. O., Oyewole, O. B., & Odusami, A. O. (2009). Microbiological safety and quality assessment of some fermented cassava products (lafun, fufu, gari). *Scientific Research and Essay*, 4(5), 432–435.
- Ojo, A., & Akande, E. A. (2013). Quality evaluation of ‘gari’ produced from cassava and sweet potato tuber mixes. *African Journal of Biotechnology*, 12(31), 4920–4924.
- Oramahi, A. H., & Haryadi, H. (2006). Identifikasi jamur genus *aspergillus* pada gaplek di Kabupaten Gunung Kidul. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 12(1), 25–32.
- Ouoba, L. I. I., Nyanga-Koumou, C. A. G., Parkouda, C., Sawadogo, H., Kobawila, S. C., Keleke, S., & Sutherland, J. P. (2010). Genotypic diversity of lactic acid bacteria isolated from African traditional alkaline-fermented foods. *Journal of Applied Microbiology*, 108(6), 2019–2029.
- Oyetayo, V. O. (2006). Nutrient and antinutrient contents of cassava steeped in different types of water for pupuru production. *Research Journal of Microbiology*, 1(5), 423–427.
- Oyewole, O. B. (1992). Cassava processing in Africa. Applications of Biotechnology to Fermented Foods: Report of an Ad Hoc Panel of the Board on Science and Technology for International Development. National Academies Press (US). Diakses pada 24 April 2018 dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK234676/>.
- Oyewole, O. B. (2001). Characteristics and significance of yeasts involvement in cassava fermentation for ‘fufu’ production. *International Journal of Food Microbiology*, 65(3), 213–218.
- Oyewole, O.B. & Sanni L.O. (1995). Constraints in traditional cassava processing the case of fufu production. Dalam Agbor (Ed.), *Transformation Alimentaire du Manioc*. Paris: Orstrorn Press.
- Padmaja, G., & Steinkraus, K. H. (1995). Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 35(4), 299–339.

- Pervez, S., Aman, A., Iqbal, S., Siddiqui, N. N., & Qader, S. A. U. (2014). Saccharification and liquefaction of cassava starch: An alternative source for the production of bioethanol using amylolytic enzymes by double fermentation process. *BMC Biotechnology*, *14*(1), 49.
- Požrl, T., Kopjar, M., Kurent, I., Hribar, J., Janeš, A., & Simčič, M. (2009). Phytate degradation during breadmaking: the influence of flour type and breadmaking procedures. *Czech Journal of Food Sciences*, *27*(1), 29–38.
- Pratiwi, N. W., Sidar, A., Zakaria, L., Darmadji P., & Rahayu, E. S. (2015). Airborne fungi and aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* group on gapelek (dried cassava) storage Warehouse in Gunung Kidul, Yogyakarta, Indonesia. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences Paper*, *17*(4), 785–798.
- Rahayu, E. S., Djaafar, T. F., Wibowo, D., & Sudarmadji, S. (1996). Lactic acid bacteria from indigenous fermented foods and their antimicrobial activity. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, *3*(2), 21–28.
- Rattanachomsri, U., Tanapongpipat, S., Eurwilaichitr, L., & Champreda, V. (2009). Simultaneous non-thermal saccharification of cassava pulp by multi-enzyme activity and ethanol fermentation by *Candida tropicalis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *107*(5), 488–493.
- Schwan, R. F., Almeida, E. G., Souza-Dias, M. A. G., & Jespersen, L. (2007). Yeast diversity in rice–cassava fermentations produced by the indigenous Tapirapé people of Brazil. *FEMS yeast research*, *7*(6), 966–972.
- Shakir, B. M. (2013). *Production of modified cassava flour (mocaf)*. (Disertasi Master of Chemical Engineering with Entrepreneurship Faculty of Chemical & Natural Resources Engineering. Universiti Malaysia Pahang).
- Sugiharta, I., Hendri, J., Yuwono, S. D., & Simanjuntak, W. (2015). Mocaf characterization using thermogravimetric analysis (TGA). *Proceeding of the IConSSE FSM SWCU: BC*, 118–121.
- Suhartatik, N., Cahyanto, M. N., Rahardjo, S., Miyashita, M., & Rahayu, E. S. (2014). Isolation and identification of lactic acid bacteria

- producing β glucosidase from Indonesian fermented foods. *International Food Research Journal*, 21(3), 973–978.
- Suhery, W. N., Halim, A., & Lucida, H. (2013). Uji sifat fisikokimia mocaf (modified cassava flour) dan pati singkong termodifikasi untuk formulasi tablet. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(3), 129–137
- Sulistyo, J., & Nakahara, K. (2013). Cassava flour modification by microorganism. *Proceedings of the 1st International Symposium on Microbial Technology for Food and Energy*. DOI (Vol. 10, No. 2.1, pp. 3702–4966).
- Sulistyo, J., Shya, L. J., Mamat, H., & Wahab, N. A. (2016, June). Nutritional value of fortified cassava flour prepared from modified cassava flour and fermented protein hydrolysates. *Proceedings of AIP Conference* (Vol. 1744, No. 1, p. 020030). AIP Publishing LLC.
- Tanya, A. N., Darman, R. D., Ejoh, R. A., & Mbahe, R. (2006). Physicochemical and sensory analysis of fermented flour “kumkum” from three improved and one local cassava varieties in the Adamawa Province of Cameroon. *Pakistan Journal of Nutrition* 5, 355–358.
- Tefera, T., Ameha, K., & Biruhtesfa, A. (2014). Cassava based foods: Microbial fermentation by single starter culture towards cyanide reduction, protein enhancement and palatability. *International Food Research Journal*, 21(5), 1751–1756.
- Tivana, L. D., Bvochora, J., Mutukumira, A. N., Owens, J. D., & Zvauya, R. (2007). Heap fermentation of cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) in Nampula province, Mozambique. *Proceedings of the 13th ISTRC Symposium*, 445–450.
- Turpin, W., Humblot, C., & Guyot, J. P. (2011). Genetic screening of functional properties of lactic acid bacteria in a fermented pearl millet slurry and in the metagenome of fermented starchy foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(24), 8722–8734.
- Uyoh, E. A., Ntui, V. O., & Udoma, N. N. (2009). Effect of local cassava fermentation methods on some physiochemical and sensory properties of fufu. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(8), 1123–1125.
- Wargiono, J., & Richana, N. (2008). Traditional and new uses of cassava roots in Indonesia. *Proceedings of the Eighth Regional Workshop held in Vientiane, Lao PDR*. Oct 20–24, 2008.

- Widiantara, T., Sutrisno, A. D., & Juliardi. (2012). Pengolahan tepung ubi kayu termodifikasi (modified cassava flour) berdasarkan variasi jenis mikroorganisme dan lama fermentasi. *Infomatek*, 14(1), 27–38.
- Wulandari, Y. W., & Mustofa, A. (2017). Karakteristik kimiawi tepung mocaf dengan variasi fermentasi spontan menggunakan youghurt sebagai starter culture. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 1(1), 18–22.
- Yulifianti, R., & Ginting, E. (2011). Karakteristik tepung mocaf dari beberapa varietas/klon ubi kayu. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi*.
- Yulineri, T., Hardiningsih, R., & Suciatmih, S. (1997). Keberadaan kapang pada gapek: Pengaruh terhadap kualitas dan daya simpan. *Berita Biologi*, 4(1), 27–33.
- Zullaikah, S., Widjaja, T., Istianah, N., Aparamarta, H. W., Gunawan, S., Prasetyoko, D., & Ernawati, L. (2015). Effect of fermenting cassava with *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Rhizopus oryzae* on the chemical composition of their flour. *International Food Research Journal*, 22(3), 1280–1287.

Buku ini tidak diperjualbelikan.