



**KARAKTERISASI GATOT TERFERMENTASI OLEH ISOLAT  
INDIGENUS GATOT SINGKONG (*Rhizopus oligosporus* DAN  
*Lactobacillus manihotivorans*)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Astriani**  
**NIM. 101710101009**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**KARAKTERISASI GATOT TERFERMENTASI OLEH ISOLAT  
INDIGENUS GATOT SINGKONG (*Rhizopus oligosporus* DAN  
*Lactobacillus manihotivorans*)**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Pertanian (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

**Astriani**  
**NIM. 101710101009**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**  
**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku, Bapak Mukanan dan Ibu Maryamah yang telah memberikan dorongan doa, motivasi, nasihat, dan kasih sayang tiada henti;
2. Mokhammad Edris dan Nelly Tri Astuti, adik-adik yang membanggakan, selalu memberi doa, dukungan dan hiburan tersendiri;
3. Ibu Dr. Nurhayati, S.TP, M.Si., dan Ibu Nurud Diniyah, S.TP, MP., sebagai Dosen Pembimbing yang banyak memberi saran, kritikan, motivasi dan pikiran-pikirannya... Mohon maaf karena saya banyak salah bu dan terima kasih banyak karena apa yang disampaikan sebenarnya untuk kebaikan saya di masa yang akan datang (hehehe)...;
4. Sahabat serta rekan-rekan yang tak tergantikan selama penelitian, Dyah, Nyum (Ria), Lia, Anis, Ayu, Sabrina dan Leli yang memberi saran, kritikan, masukan, motivasi, mengerti suka duka penelitian dan penyusunan skripsi;
5. Kakak-kakak baru yang diperoleh selama di Jember (mbak Ratri cs), keluarga Kost Puri Bidari dan rekan-rekan angkatan 2010 yang saling mendukung, bekerja sama dan memberi masukan-masukan;
6. PT Indofood Sukses Makmur yang telah berpartisipasi dalam pemberian saran dan pendanaan melalui program IRN 2013/2014;
7. Almamater tercinta Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

## MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Ia mendapat pahala (dari kebijakan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahanatan) yang dikerjakannya.” (Q.S Al-baqoroh: 286).

Setiap keadaan apapun itu jika diterima dan dijalani dengan rela dan ikhlas, sekalipun berupa ujian atau musibah maka akan terasa indah hingga akan memberikan hawa ketenangan.

“Bismillah..... Alhamdulillah.....”  
(Penulis)

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2000. *Al qur'an an Terjemahannya*. Bandung: Penerbit Jabal.

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Astriani

NIM : 101710101009

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Karakterisasi Gatot Terfermentasi oleh Isolat Indigenus Gatot Singkong (*Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans*)“ adalah benar-benar karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Juni 2015

Yang menyatakan,

Astriani  
NIM. 101710101009

**SKRIPSI**

**KARAKTERISASI GATOT TERFERMENTASI OLEH ISOLAT  
INDIGENUS GATOT SINGKONG (*Rhizopus oligosporus* DAN  
*Lactobacillus manihotivorans*)**

Oleh

Astriani  
NIM. 101710101009

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Nurhayati, S.TP, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Nurud Diniyah, S.TP, M.P.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Karakterisasi Gatot Terfermentasi oleh Isolat Indigenus Gatot Singkong (*Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans*)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Jum'at, 27 Maret 2015

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.  
NIP. 196411091989021002

Sekretaris,

Ir. Wiwik Siti Windrati, M.P.  
NIP. 195311211979032002

Mengesahkan  
Dekan,

Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P.  
NIP. 196912121998021001

**Astriani**

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,  
Universitas Jember

## ABSTRAK

Gatot merupakan makanan tradisional dari singkong yang diproduksi melalui fermentasi spontan. Gatot fermentasi spontan umumnya memiliki karakteristik yang kurang baik. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi kapang dan bakteri asam laktat (BAL) dari gatot dan memproduksi gatot menggunakan kultur/isolat kapang dan BAL indigenus gatot. Kapang diisolasi dari gatot menggunakan media *Malt Extract Agar* (MEA) sementara BAL diisolasi dari air rendaman singkong sebelum roses pemasakan menggunakan *de Mann Sharp Rogosa Agar* (MRSA). Gatot dapat diproduksi melalui fermentasi spontan menggunakan isolate indigenus terpilih dan aman (tidak menghasilkan toksin).

Isolasi menghasilkan tiga kapang indigenus yaitu *Rhizopus oligosporus*, *Aspegillus niger* dan *Trichoderma* sp. serta empat isolat BAL indigenus yaitu *Lactobacillus manihotivorans*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacillus brevis*, dan *Lactobacillus fermentum*. Produksi fermentasi terkendali pada gatot dilakukan oleh *Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans* indigenus gatot. Hasil dari evaluasi sensoris gatot menunjukkan bahwa fermentasi terkendali memiliki karakteristik yang lebih baik. GKB memiliki warna-teksur kenyal serta GB memiliki tekstur kenyal yang lebih disukai panelis daripada GK dan GS (gatot terfermentasi spontan). Sifat fisik warna (*whiteness*) pada gatot singkong terfermentasi antara 37.68-57.91. Sifat kimiawi gatot singkong yaitu GKB meliputi kadar air (13.51% bb), kadar abu (0.65% bk), kadar protein (9.59% bk), kadar lemak (3.32% bk) dan kadar karbohidrat (72.93% bk); GK meliputi kadar air (12.54% bb), kadar abu (0.62% bk), kadar protein (9.53% bk), kadar lemak (2.28% bk) dan kadar karbohidrat (75.04% bk); GS meliputi kadar air (12.73% bb), kadar abu (0.59% bk), kadar protein (9.8% bk), kadar lemak (3.16% bk) dan kadar karbohidrat (73.73 bk) serta GB meliputi kadar air (13.15% bb), kadar abu (0.61% bk), kadar protein (9.74% bk), kadar lemak (3.45% bk) dan kadar karbohidrat (73.01% bk).

**Kata kunci:** *bakteri asam laktat indigenus, fermentasi terkendali, gatot singkong, kapang indigenus*

**Astriani**

*Agricultural Product Technology Department, Agricultural Technology Faculty,  
Jember University*

## **ABSTRACT**

*Gatot was traditional food from cassava that produced by spontaneous fermentation. Spontaneous fermented gatot usually have less characteristics. The aim of the research were to isolate and identify the fungi and lactic acid bacteria (LAB) from gatot and produce the gatot by using dominan culture of fungi and LAB indigenous gatot. The fungi was isolated from gatot by using Malt Extract Agar (MEA), while LAB was isolated from water of submerged fermentation gatot before cooking process by using de Mann Sharp Rogosa Agar (MRSA). Then gatot produced by controlled fermentation using safety (non-toxic) and chosen indigenous isolate.*

*There were three genus of isolates fungi i.e. Rhizopus oligosporus, Aspergillus niger and Trichoderma sp. and four genus of isolates LAB i.e. Lactobacillus manihotivorans, Bacillus licheniformis, Brevibacillus brevis dan Lactobacillus fermentum. Controlled fermentation of gatot production was conducted by R. oligosporus and L. manihotivorans. Based on the result of sensory evaluation showed that controlled fermentation had better characteristic. GKB had black colour-chewy texture and GB had chewy texture better than GK and GS (spontaneous fermented gatot). Whiteness of fermented gatot had 37.68-57.91. Spontaneous fermented gatot (GS) respectively had water content: 12.73% wb, ash content: 0.59% db, protein content: 9.77% db, fat content: 3.15% db and carbohydrate content: 73.77% db. Fungi-LAB fermentation gatot (GKB) had water content: 13.51% db, ash content: 0.65% db, protein content: 9.59% db, fat content: 3.32% db and carbohydrate content: 72.93% db. Fungi fermented gatot (GK) had water content: 12.54% wb, ash content: 0.62% db, protein content: 9.53% db, fat content: 2.28% db and carbohydrate content: 75.03% db. LAB fermented gatot (GB) had water content: 13.15% wb, ash content: 0.61% db, protein content: 9.74% db, fat content: 3.45% db and carbohydrate content: 73.06% db.*

**Key words:** cassava gatot, controlled fermentation, fungi indigenous gatot, lactic acid bacteria indigenous gatot

## RINGKASAN

**Karakterisasi Gatot Terfermentasi oleh Isolat Indigenus Gatot Singkong (*Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans*);** Astriani, 101710101009; 2014; 53 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Singkong merupakan bahan pangan dengan kandungan pati tinggi. Bahan pangan berpati dapat mengalami fermentasi spontan. Gatot merupakan salah satu makanan tradisional yang mengalami fermentasi spontan. Pada fermentasi spontan, jenis kapang dan BAL yang terlibat di dalam fermentasi spontan belum teridentifikasi sehingga kegiatan ataupun hasil fermentasinya menghasilkan karakteristik gatot yang kurang baik. Oleh karena itu, diperlukan isolasi dan identifikasi kapang dan bakteri asam laktat pada gatot singkong. Isolat yang terpilih dan aman (tidak menghasilkan toksin) dapat digunakan dalam pembuatan gatot singkong secara fermentasi terkendali sebagai starter indigenus.

Tujuan penelitian ini meliputi produksi gatot singkong secara fermentasi spontan, isolasi dan identifikasi kapang dan BAL pada gatot singkong fermentasi spontan, produksi gatot singkong secara fermentasi spontan dan fermentasi terkendali serta analisis sifat fisik, analisis kimia dan analisis sifat sensoris gatot singkong. Penelitian menggunakan analisis data secara deskriptif. Faktor yang digunakan adalah penambahan starter dengan variasi jenis starter yaitu starter *R. oligosporus* indigenus pada fermentasi padat singkong dan starter *L. manihotivorans* indigenus selama proses perendaman gatot. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak dua kali. Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel atau grafik disertai *error bars*.

Isolasi dan identifikasi menghasilkan tiga kapang indigenus yaitu *Rhizopus oligosporus*, *Aspegillus niger* dan *Trichoderma* sp. serta empat isolat BAL indigenus yaitu *Lactobacillus manihotivorans*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacillus brevis*, dan *Lactobacillus fermentum*. Produksi fermentasi terkendali pada gatot dilakukan oleh *Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans* indigenus gatot.

Hasil dari evaluasi sensoris gatot menunjukkan bahwa fermentasi terkendali memiliki karakteristik yang lebih baik. GKB dan GK memiliki warna hitam merata dan kenyal serta GB berasa kenyal dibanding GK dan GS (gatot terfermentasi spontan). Sifat fisik warna (*whiteness*) pada gatot singkong terfermentasi antara 37.68-57.91. Sifat kimiawi gatot singkong yaitu GKB meliputi kadar air (13.51% bb), kadar abu (0.65% bk), kadar protein (9.59% bk), kadar lemak (3.32% bk) dan kadar karbohidrat (72.93% bk); GK meliputi kadar air (12.54% bb), kadar abu (0.62% bk), kadar protein (9.53% bk), kadar lemak (2.28% bk) dan kadar karbohidrat (75.04% bk); GS meliputi kadar air (12.73% bk), kadar abu (0.59% bk), kadar protein (9.8% bk), kadar lemak (3.16% bk) dan kadar karbohidrat (73.73% bk) serta GB meliputi kadar air (13.15% bb), kadar abu (0.61% bk), kadar protein (9.74% bk), kadar lemak (3.45% bk) dan kadar karbohidrat (73.01% bk).

## SUMMARY

*Characterization of Gatot Fermented by Rhizopus oligosporus and Lactobacillus manihotivorans Indigenous Isolates from Cassava Gatot; Astriani, 101710101009; 2014: 72 pages; Agricultural Product Technology Department, Agricultural Technology Faculty, Jember University*

*Cassava is a rawfood with a high starch content that occurs fermentation spontaneously. Gatot was a traditional food from cassava that was produced by spontaneous fermentation. In spontaneous fermentation, the type of fungi and LAB have not been identified so that the activities or results of fermentation usually have less characteristics. Therefore, the research were isolate and identify the indigenous fungi and lactic acid bacteria of gatot. The safety (non-toxic) indigenous isolate can be used as a starter for controlled fermentation of cassava gatot.*

*The aim of the research were to produce spontaneous fermentation gatot, isolate and identify of indigenous fungi and LAB, produce gatot by controlled fermentation using indigenous fungi and LAB and analyze physical properties, chemical content and sensory evaluation. The study used descriptive data analysis. The research factor were the starter added with R. oligosporus indigenous on solid state fermentation and L. manihotivorans on submerged fermentation of gatot. Each treatment were repeated twice. Data showed in the tables or graphs with error bars.*

*The results showed that there were three genus of fungi i.e. Rhizopus oligosporus, Aspergillus niger, Trichoderma sp. and four genus of LAB i.e. Lactobacillus manihotivorans, Bacillus licheniformis, Brevibacillus brevis dan Lactobacillus fermentum. Controlled fermentation of gatot production was conducted by R. oligosporus and L. manihotivorans.*

*Based on the result of sensory evaluation showed that controlled fermentation had better characteristic. GKB had black colour-chewy texture and GB had chewy texture better than GK and GS (spontaneous fermented gatot). Whiteness of fermented gatot had 37.68-57.91. Spontaneous fermented gatot (GS)*

*respectively had water content: 12.73% wb, ash content: 0.59% db, protein content: 9.77% db, fat content: 3.15% db and carbohydrate content: 73.77% db. Fungi-LAB fermentation gatot (GKB) had water content: 13.51% wb, ash content: 0.65% db, protein content: 9.59% db, fat content: 3.32% db and carbohydrate content: 72.93% db. Fungi fermented gatot (GK) had water content: 12.54% db, ash content: 0.62% db, protein content: 9.53% db, fat content: 2.28% db and carbohydrate content: 75.03% db. LAB fermented gatot (GB) had water content: 13.15% wb, ash content: 0.61% db, protein content: 9.74% db, fat content: 3.45% db and carbohydrate content: 73.06% db.*

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, taufiq dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Gatot Melalui Fermentasi Terkendali Menggunakan Isolat *Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans* Indigenus Gatot Singkong”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Sejak perencanaan penelitian sampai penyusunan, skripsi ini tidak terlepas dari kendala-kendala yang ada. Namun, berkat dukungan dan arahan dari berbagai pihak sehingga penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dr. Yuli Witono, S.TP., MP., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian;
2. Ir. Giyarto, MSc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian;
3. Dr. Nurhayati, S.TP, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Nurud Diniyah, S.TP, M.P. selaku Dosen Pembimbing Anggota I yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaiannya penyusunan skripsi ini;
4. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc., dan Ir. Wiwik Siti Windrati, M.P. selaku Dosen Penguji yang telah mengevaluasi dan memberi saran demi perbaikan penulisan skripsi ini;
5. PT Indofood Sukses Makmur yang telah memberikan dana penelitian serta kritik dan saran yang dapat membangun dalam penulisan skripsi ini melalui program CSR Indofood Riset Nugraha (IRN) 2013/2014;
6. Segenap dosen, karyawan dan teknisi laboratorium Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian atas kerjasama yang diberikan;
7. Keluargaku (Bapak, Ibu, Adek dan Mbah) yang telah memberikan dorongan doa, motivasi, nasihat, dan kasih sayang yang tiada henti;

8. Sahabat dan rekan seperjuangan, senasib, dan sepenanggungan (THP 2010 Mantap Jaya) yang selalu memberikan saran, motivasi, semangat, dan bantuan;
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu;

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan serta pengetahuan bagi pembaca.

Jember, 18 Juni 2015

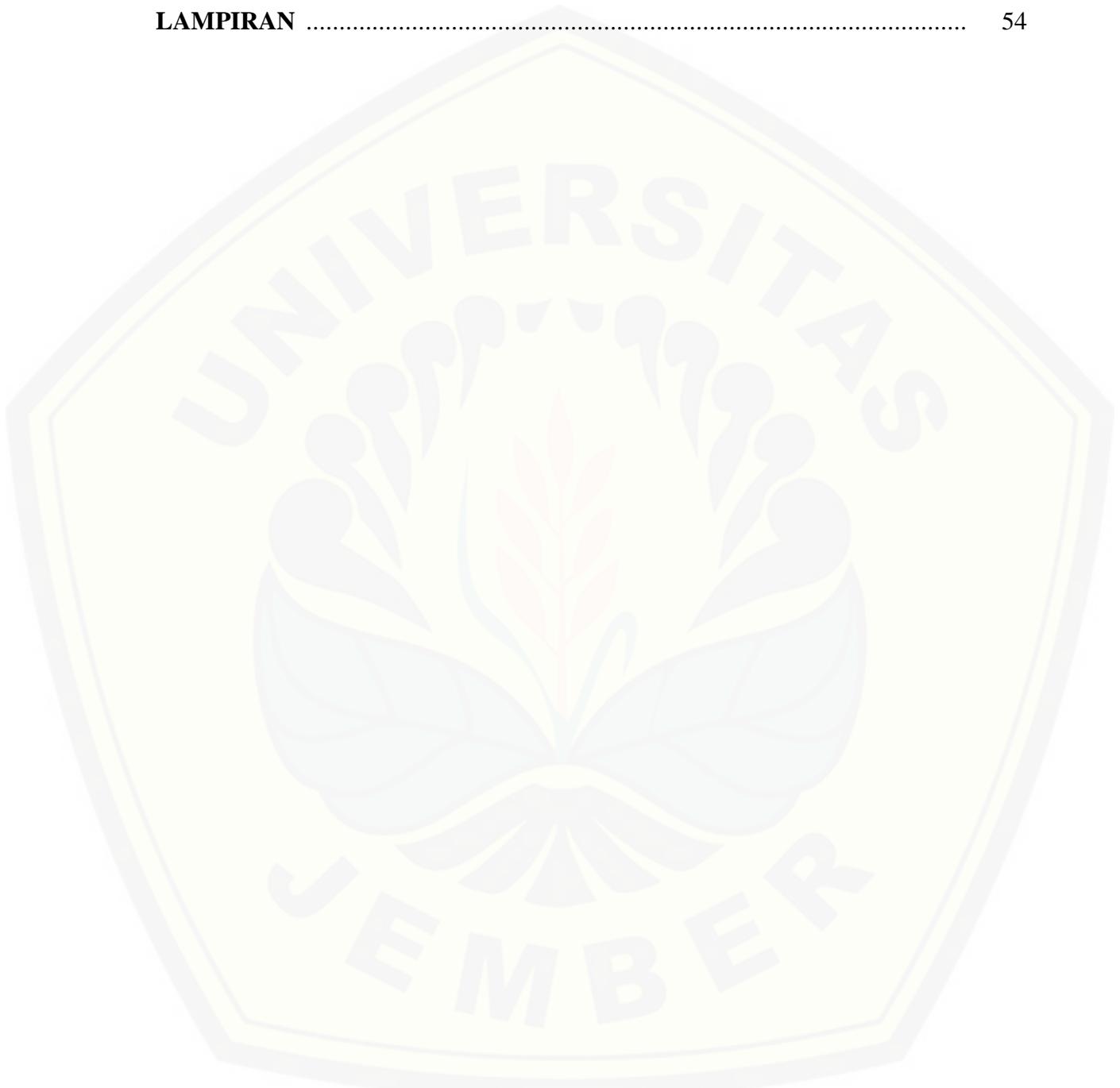
Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	iii
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI .....</b>	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	vii
<b>ABSTRAK.....</b>	viii
<b>ABSTRACT .....</b>	ix
<b>RINGKASAN .....</b>	x
<b>SUMMARY .....</b>	xii
<b>PRAKATA .....</b>	xiv
<b>DAFTAR ISI.....</b>	xvi
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	xix
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	xx
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	xxii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	1
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	1
<b>1.2 Perumusan Masalah .....</b>	2
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	3
<b>1.2 Manfaat Penelitian .....</b>	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	4
<b>2.1 Varietas dan Kandungan Gizi Singkong .....</b>	4
<b>2.2 Fermentasi pada Produk Pangan Berpati .....</b>	5
<b>2.3 <i>Lactobacillus manihotivorans</i> .....</b>	7
<b>2.4 <i>Rhizopus oligosporus</i> .....</b>	8
<b>2.5 <i>Aspergillus niger</i> .....</b>	8
<b>2.6 <i>Trichoderma</i> sp. .....</b>	9
<b>2.7 Gatot Singkong .....</b>	10

<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	12
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	12
<b>3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....</b>	12
3.2.1 Bahan Penelitian .....	12
3.2.2 Alat Penelitian .....	12
<b>3.3 Metode Penelitian .....</b>	13
3.3.1 Rancangan Penelitian .....	13
3.3.2 Tahap Penelitian .....	13
<b>3.4 Parameter Analisis terhadap Gatot .....</b>	25
<b>3.5 Prosedur Analisis .....</b>	25
3.5.1 Sifat Fisik .....	25
3.5.2 Sifat Kimia .....	25
3.5.3 Analisis Mutu Sensoris .....	28
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	29
<b>4.1 Gatot Singkong Terfermentasi Spontan .....</b>	29
<b>4.2 Isolat Kapang Indigenus dari Gatot Terfermentasi Spontan ....</b>	30
4.2.1 <i>Rhizopus oligosporus</i> .....	30
4.2.2 <i>Trichoderma</i> sp. .....	31
4.2.3 <i>Aspergillus niger</i> .....	32
<b>4.3 Isolat Bakteri Asam Laktat Indigenus Gatot Singkong .....</b>	33
<b>4.4 Gatot Singkong Terfermentasi Spontan dan Terkendali .....</b>	37
<b>4.5 Karakteristik Fisik Gatot Singkong Kukus .....</b>	39
4.5.1 Warna .....	39
<b>4.6 Karakteristik Kimia Gatot Singkong Kering .....</b>	40
4.6.1 Kadar air .....	41
4.6.2 Kadar abu .....	41
4.6.3 Kadar protein .....	42
4.6.4 Kadar lemak .....	42
4.6.5 Kadar karbohidrat .....	43
<b>4.7 Karakteristik Sensoris Gatot Singkong Kukus .....</b>	43
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	49

<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	49
<b>5.2 Saran .....</b>	49
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	50
<b>LAMPIRAN .....</b>	54



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan gizi singkong dan gapelek .....	5
4.1 Karakteristik morfologi dan fisiologi bakteri asam laktat dari air rendaman gatot singkong .....	33
4.2 Komposisi kimia gatot singkong.....	41

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 (a) Koloni <i>Trichoderma</i> sp. dan (b) <i>Trichoderma</i> sp. pengamatan mikroskop perbesaran 400x .....	9
2.2 Gatot singkong yang ditambah dengan parutan kelapa.....	11
3.1 Diagram alir proses pembuatan gatot singkong secara fermentasi spontan .....	14
3.2 Diagram alir proses isolasi, identifikasi dan pembuatan starter kapang indigenus gatot .....	16
3.3 Diagram alir proses isolasi, identifikasi dan pembuatanstarter BAL Indigenus gatot .....	20
3.4 Diagram alir produksi gatot terfermentasi padat secara terkendali oleh <i>R. oligosporus</i> dan terfermentasi padat secara spontan .....	23
3.5 Diagram alir fermentasi terendam secara terkendali oleh <i>L. manihotivorans</i> dan fermentasi terendam secara spontanpada produksi gatot .....	24
4.1 Hasil fermentasi spontan gatot singkong: (a) warna hitam merata, (b) warna hitam kurang merata dan (c) warna tetap putih .....	29
4.2 Isolat kapang indigenus pada media <i>Malt Extract Agar</i> miring: (a) <i>Rhizopus oligosporus</i> , (b) <i>Trichoderma</i> sp. dan (c) <i>Aspergillus niger</i> .....	30
4.3 Pengamatan morfologi <i>Rhizopus oligosporus</i> secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran (a) 100x dan (b) 400x .....	30
4.4 Pengamatan morfologi <i>Trichoderma</i> sp. secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran: (a) 100x dan (b) 400x .....	31
4.5 Pengamatan morfologi <i>Aspergillus niger</i> secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran: (a) 100x dan (b) 400x .....	32
4.6 Pewarnaan gram dan pengamatan sel bakteri asam laktat secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran 1000x masing-masing isolat (a) A1, (b) isolat B1, (c) isolat C1, (d) isolat A2, (e) isolat B2 dan (f) isolat C2 .....	35

4.7	Gatot singkong hasil: (a) fermentasi padat terkendali menggunakan starter indigenus kapang <i>R. oligosporus</i> dan (b) fermentasi spontan tanpa penambahan starter indigenus .....	38
4.8	Gatot kukus hasil fermentasi spontan dan terkendali dengan starter indigenus: (a) gatot kontrol/fermentasi spontan (GS), (b) gatot terfermentasi BAL (GB), (c) gatot terfermentasi kapang (GK), dan (d) gatot terfermentasi kapang dan BAL (GKB) .....	39
4.9	<i>Whiteness</i> /warna pada gatot singkong kukus .....	39
4.10	Nilai sensoris gatot singkong kukus dalam diagram jaring laba-laba .....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Produksi Gatot Singkong secara Fermentasi Spontan .....	54
B. Pemurnian Kapang Indigenus Gatot Singkong .....	54
C. Pemurnian Bakteri Asam Laktat Indigenus Gatot Singkong .....	55
D. Uji Fisiologis Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) .....	56
D.1 Uji Suhu Pertumbuhan Isolat BAL .....	56
D.2 Uji Katalase Isolat BAL .....	56
D.3 Identifikasi Spesies BAL Menggunakan <i>software Kit BBL Crystal</i> .....	57
D.4 Substrat yang dapat Difermnetasi BAL sesuai Uji Kit BBL <i>Crystal</i> .....	60
E. Hasil Pengukuran Sifat Fisik Gatot Singkong Kukus .....	62
E.1 Warna/ <i>Whiteness</i> .....	62
F. Hasil Pengukuran Sifat Kimiawi Gatot Singkong Kering .....	62
F.1 Kadar Air .....	62
F.2 Kadar Abu .....	63
F.3 Kadar Protein.....	64
F.4 Kadar Lemak .....	64
F.5 Kadar karbohidrat .....	65
G. Hasil Evaluasi Gatot Singkong Kukus .....	66
G.1 Gatot Terfermentasi Kapang dan BAL (GKB) .....	66
G.2 Gatot Terfermentasi Kapang (GK) .....	67
G.3 Gatot Terfermentasi Spontan/Kontrol (GS) .....	68
G.4 Gatot Terfermentasi BAL (GB) .....	69
H. Hasil Uji Protein di Laboratorium Analisis Terpadu Politeknik Negeri Jember .....	70
I. Kuisioner Uji Karakteristik Sensoris Gatot Singkong Kukus .....	71

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Singkong (*Manihot utilissima*) merupakan komoditas yang potensial di Indonesia. Singkong merupakan sumber karbohidrat lokal yang menduduki urutan ketiga terbesar setelah komoditas padi dan jagung di Jawa Timur. Menurut Badan Pusat Statistik (2014), produksi singkong di Jawa Timur tinggi yaitu 3.846.127 ton pada tahun 2014. Tanaman singkong merupakan bahan baku yang paling potensial untuk diolah menjadi tepung. Produk diversifikasi singkong juga sudah banyak diproduksi dan paling popular adalah MOCAF (*Modified Cassava Flour*). Selain itu produk olahan lain dari singkong misalnya gapelek, tepung kasava, tepung tapioka dan lain-lain. Gapelek ini dapat dijadikan sebagai bahan dasar yang dapat diolah lebih lanjut menjadi gatot. Produksi gapelek banyak dilakukan di Trenggalek terutama di daerah pedesaan. Gapelek dapat dijadikan sebagai makanan pengganti nasi karena kandungan karbohidratnya yang tinggi. Gapelek ini selanjutnya akan diolah lebih lanjut menjadi tiwul melalui proses penepungan dan restrukturisasi, sedangkan gatot singkong melalui proses lanjut yaitu perendaman dan pengukusan.

Gatot merupakan produk hasil olahan singkong (*Manihot utilissima*) melalui proses fermentasi oleh kapang dan bakteri asam laktat. Beberapa varietas singkong dapat digunakan sebagai bahan gatot singkong, baik singkong dengan kandungan asam sianida rendah maupun tinggi. Pada umumnya gatot dibuat melalui beberapa tahap yaitu pengupasan, pencucian, pengeringan awal, fermentasi spontan, pengeringan lanjutan, perendaman, pengecilan ukuran dan pengukusan. Gatot memiliki karakteristik unik yaitu berwarna hitam dan bertekstur kenyal karena dimungkinkan adanya aktivitas kapang dan bakteri selama fermentasi spontan. Kapang dan bakteri berasal dari jenis amilolitik yang berperan dalam hidrolisis pati sehingga dihasilkan tekstur kenyal selama fermentasi spontan. Warna hitam dari gatot juga dihasilkan dari aktivitas kapang. Selain itu menurut Winarno (1993), enzim poliphenolase pada lendir singkong akan mengubah senyawa polifenol menjadi senyawa yang berwarna hitam ketika

kontak dengan udara. Hal ini menyebabkan daging singkong berubah warna menjadi kehitaman di beberapa bagian tertentu.

Fermentasi spontan dan jenis mikroba yang terlibat di dalam fermentasi spontan gatot belum teridentifikasi sehingga kegiatan ataupun hasil fermentasinya dapat mengarah pada karakteristik produk yang kurang baik. Hal tersebut dapat dihindari dengan melakukan fermentasi terkendali. Nurhayati (2011) melaporkan bahwa fermentasi terkendali oleh bakteri asam laktat (BAL) indigenus pada pembuatan tepung pisang kaya RS (*resisten starch*) menyebabkan mutu produk lebih baik daripada fermentasi spontan. Oleh karena itu, penelitian ini meliputi isolasi dan identifikasi kapang dan BAL dari gatot spontan sehingga dihasilkan isolat kapang dan BAL, produksi gatot singkong secara spontan dan terkendali dengan penambahan starter indigenus terpilih serta karakterisasi gatot yang dihasilkan. Isolat kapang dan BAL terpilih akan dibuat starter indigenus sehingga dapat digunakan dalam produksi gatot singkong secara fermentasi terkendali.

Fermentasi terkendali dilakukan pada proses pembuatan gatot singkong melalui penambahan starter kapang dan bakteri asam laktat indigenus dari gatot singkong. Selanjutnya karakterisasi gatot dilakukan berdasarkan parameter-parameter tertentu meliputi karakteristik fisik, kimia dan sensoris. Karakteristik fisik meliputi uji warna, karakteristik kimia meliputi kadar air, kadar protein, kadar abu, kadar lemak dan kadar karbohidrat. Uji terhadap karakteristik sensoris juga dilakukan untuk mengetahui kualitas dari segi kesukaan panelis terhadap gatot singkong hasil fermentasi terkendali.

## 1.2 Perumusan Masalah

Gatot merupakan produk diversifikasi dari singkong yang dibuat melalui fermentasi spontan. Fermentasi spontan terjadi karena mikroba tumbuh secara alami untuk memfermentasi singkong. Gatot umumnya berwarna hitam dan berasa kenyal karena adanya pertumbuhan kapang dan bakteri selama proses fermentasi spontan. Beberapa jenis kapang dan bakteri yang belum teridentifikasi secara jelas (genus) dapat tumbuh selama fermentasi spontan. Hal tersebut menyebabkan mutu gatot kurang baik sehingga perlu dilakukan penelitian untuk

isolasi dan identifikasi kapang dan bakteri indigenus. Isolasi kapang dan bakteri akan menghasilkan beberapa isolat. Isolat yang bersifat menguntungkan akan dijadikan sebagai starter indigenus. Dengan diperolehnya kapang dan bakteri indigenus maka dapat dilakukan fermentasi terkendali dalam rangka proses produksi gatot dan mengetahui karakteristik gatot singkong.

Karakterisasi gatot singkong melalui fermentasi terkendali dilakukan dengan penambahan starter indigenus kapang dan bakteri yang memiliki sifat menguntungkan dan tidak menghasilkan toksin. Fermentasi terkendali menggunakan isolat terpilih juga bertujuan untuk mengetahui karakteristik gatot singkong yang dihasilkan. Pengujian terhadap gatot singkong dilakukan melalui uji karakteristik fisik meliputi uji warna, uji karakteristik kimia meliputi kadar air, kadar protein, kadar abu, kadar lemak dan kadar karbohidrat serta uji sensoris. Uji sensoris dilakukan untuk mengetahui kualitas dan penerimaan konsumen dari gatot singkong hasil fermentasi terkendali.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi kapang dan bakteri asam laktat indigenus dari fermentasi spontan gatot singkong sebagai starter indigenus dalam produksi gatot fermentasi terkendali.
2. Mengetahui karakteristik fisik, kimia dan sensoris gatot yang dihasilkan dari proses fermentasi terkendali.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu dapat mengetahui jenis kapang dan BAL yang tumbuh pada gatot terfermentasi spontan. Selain itu juga dapat memberikan informasi tentang karakteristik gatot terfermentasi spontan dan terkendali sebagai produk pangan lokal Indonesia. Teknologi fermentasi gatot tersebut dapat diaplikasikan di masyarakat sehingga diharapkan mampu meningkatkan diversifikasi komoditas singkong melalui gatot singkong.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Varietas dan Kandungan Gizi Singkong

Singkong (*Manihot utilissima*) merupakan sumber karbohidrat lokal yang menduduki urutan ketiga terbesar setelah padi dan jagung di Jawa Timur (BPS, 2013). Singkong (*Manihot utilissima*) termasuk tumbuhan berbatang pohon lunak (mudah patah). Bagian tengah pohon singkong bergabus dan termasuk tumbuhan yang tingginya mencapai 1-4 meter (Handoko, 2009).

Beberapa varietas tanaman ubi kayu menurut Kertasapoetra (1999) yang banyak memberikan hasil dari pertanamannya adalah jenis mangi, valenca, betawi, bogor, basiorao dan muara. Jenis mangi memberikan hasil umbi sebesar 200 kuintal per hektar, umbinya panjang bertangkai, kadar zat tepung sekitar 35%, bila direbus rasanya manis dan daging singkong mempunyai warna kuning. Jenis valenca memberikan hasil untuk pertanamannya sekitar 200 kuintal umbi per hektar dengan keadaan umbi bertangkai dari sedang sampai gemuk, kadar zat tepung sekitar 33,1%, bila direbus rasanya manis dan daging singkong mempunyai warna putih. Jenis betawi adalah jenis singkong yang menghasilkan umbi sekitar 300 kuintal per hektar, umbinya gemuk tidak bertangkai, kadar zat tepung 34,4% dan bila direbus rasanya manis. Jenis ini mempunyai daging singkong yang berwarna putih dan kuning.

Jenis singkong bogor memiliki hasil pertanaman 400 kuintal per hektar, umbinya berasa pahit dan beracun, umbinya gemuk dan bertangkai dengan kadar zat tepung yang dikandungnya sekitar 30,9% sehingga sering digunakan sebagai bahan tepung kanji. Jenis basiorao menghasilkan umbi 300 kuintal per hektar. Umbi jenis ini menghasilkan rasa pahit, beracun, berukuran sedang dan kadar zat tepung sekitar 31,2% sehingga baik untuk industri tepung. Jenis terakhir adalah jenis muara dengan hasil penanamannya sekitar 400 kuintal per hektar. Umbi singkong ini gemuk tetapi sangat beracun dan kadar zat tepung 36,9%. Jenis singkong ini biasanya disebut dengan singkong karet. Singkong karet (*Manihot glaziovii*) banyak ditanam sebagai tanaman halaman atau ladang.

Kandungan gizi singkong secara umum terdiri dari karbohidrat, protein, lemak, kalsium, fosfor dan air. Kandungan gizi tertinggi dari singkong segar adalah karbohidrat sehingga dijadikan sebagai sumber karbohidrat dan serat makanan, namun sedikit kandungan zat gizi seperti protein. Tabel 2.1 menyajikan kandungan gizi singkong. Singkong segar mengandung senyawa yang bervariasi kadarnya. Proses oksidasi glukosida sianogenik oleh enzim linamarase akan menghasilkan glukosa dan asam sianida (HCN) yang ditandai dengan bercak warna biru. HCN lebih dari 50 ppm akan menjadi toxin (racun) bila dikonsumsi manusia (Prabawati *et al.*, 2011). Hasil olahan singkong misalnya gapelek, secara umum memiliki kandungan gizi antara lain karbohidrat, protein, lemak, kalsium, fosfor dan air (Direktorat Gizi Depkes RI, 2002). Kandungan gizi gapelek dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Kandungan gizi singkong dan gapelek

No.	Kandungan Gizi	Satuan	Singkong		Gapelek
			Jumlah *(%bb)	Jumlah **(%bb)	Jumlah ***(%bk)
1.	Karbohidrat	%	34.7	81.9	90.51
2.	Protein	%	1.2	1.5	1.75
3.	Lemak	%	0.3	0.7	0.82
4.	Kalsium	(mg/100 g)	33.0	80	
5.	Phosfor	(mg/100 g)	40.0	60	
6.	Vitamin A	SI	-	-	-
7.	Air	%	62.5	14.5	6.92
6.	Mineral	%			0.082****

Sumber : \*Suliantri dan Winiati, 1990

\*\* Direktorat Gizi, Depkes RI (2002)

\*\*\* Dilakukan konversi ke %bk

\*\*\*\* Emmanuel *et al.*, 2011

## 2.2 Fermentasi pada Produk Pangan Berpati

Bahan pangan berpati dapat mengalami fermentasi. Fermentasi adalah proses hidrolisis bahan pangan dengan bantuan mikroba. Beberapa mikroba yang

berperan dalam fermentasi pangan berpati adalah khamir, bakteri dan kapang. Ketiga mikroba tersebut membutuhkan karbohidrat untuk tumbuh.

Mikroba dari jenis bakteri asam laktat dapat memfermentasikan pangan berpati karena bersifat amilolitik. Bakteri asam laktat memiliki sifat amilolitik yaitu mampu menghasilkan enzim amilase untuk mendegradasi pati dari substrat pangan berpati. Singkong yang merupakan pangan berpati mengalami fermentasi terendam (*submerged fermentation*). Fermentasi terendam merupakan proses fermentasi menggunakan larutan selama proses perendaman. Fermentasi terendam diaplikasikan pada pembuatan chips MOCAF (Subagio *et al.*, 2006). Reddy *et al.* (2008) mengemukakan bahwa bakteri asam laktat dapat ditemukan dan diisolasi pada beragam jenis bahan pangan antara lain singkong, pati singkong, pati jagung dan dedak gandum.

Bakteri asam laktat yang sudah teridentifikasi memiliki sifat amilolitik antara lain *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *L. manihotivorans*, *L. amylophilus*, dan *Streptococcus bovis*. Olympia *et al.* (1995) meng karakteristik strain *L. plantarum* dari makanan khas Filipina yaitu *burong isda* yang terbuat dari ikan dan nasi. Strain amilolitik *L. fermentum* diisolasi dari adonan pati jagung Benin (Agati *et al.*, 1998). Spesies terbaru BAL amilolitik adalah *Lactobacillus manihotivorans* yang diisolasi dari produksi pati asam ubi kayu di Columbia. Aktivitas  $\alpha$ -amilase pada *L. manihotivorans* sebesar 1.7 U/ml dan dapat meningkat menjadi 13.2 U/ml pada pH 6 (Guyot *et al.*, 2000). Aktivitas  $\alpha$ -amilase dalam fermentasi pati oleh *Streptococcus bovis* sebesar 1.41 U/ml lebih besar daripada fermentasi glukosa (0.06 U/ml) (Narita *et al.*, 2004). Vishnu *et al.* (2006) mengidentifikasi enzim amilase dengan aktivitas sebesar 0.439 U/g/min dan enzim pululanase dengan aktivitas sebesar 0.18 U/g/min dari *Lactobacillus amylophilus* yang memfermentasikan media dedak gandum.

Bakteri asam laktat amilolitik dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu amilase dan pululanase yang dapat menghidrolisis sebagian pati alami menjadi gula sederhana dan oligosakarida lain atau dekstrin (Sikorsi, 2002). Perubahan mikrostruktur juga dihasilkan oleh aktivitas BAL selama inkubasi 24 jam pada media pati gandum, kentang dan kacang polong (Wronkowska *et al.*, 2006).

Sajilata *et al.* (2006) juga menjelaskan perubahan struktur pati dari kristalin menjadi lebih porus (amorf), meningkatkan kemampuan pelepasan amilosa, menurunkan suhu gelatinisasi pati serta meningkatkan viskositas.

Beberapa kapang memiliki sifat amilolitik misalnya *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. dan *Trichoderma* sp.. *A. niger* menghasilkan enzim ekstra selluler seperti protease, amilase dan manase (Mardigan dan Martinko, 2006). Menurut Gunter (2005), kapang *Rhizopus* sp. memiliki rhizoid yang dapat menembus substrat bahan organik. *Trichoderma* sp. merupakan jenis kapang selulolitik dan amilolitik pengurai bahan organik (Kusnadi *et al.*, 2008). Secara umum, kapang bekerja pada substrat melalui fermentasi media padat (*solid state fermentation*). Fermentasi media padat merupakan proses fermentasi yang berlangsung dalam substrat tidak larut, namun mengandung air yang cukup sekalipun tidak mengalir bebas (Khoramnia *et al.*, 2011). Fermentasi media padat terjadi pada tempe, tape, dan gatot. Fermentasi padat dapat dilakukan pada kondisi ruang atau dengan menggunakan suhu, agitasi, pH dan waktu inkubasi berbeda untuk substrat yang difermentasikan. Bahan lain misalya *coconut oil cake* (COC) atau bungkil kelapa dapat dijadikan sebagai substrat fermentasi media padat dalam pembuatan enzim lipase (Khoramnia *et al.*, 2011). Proses ini dapat menghasilkan enzim lipase dari bakteri *Acinetobacter* sp.

### 2.3 *Lactobacillus manihotivorans*

*Lactobacillus manihotivorans* termasuk dalam spesies bakteri asam laktat, bakteri mesofilik dan berbentuk basil/batang melalui pengamatan mikroskopis (Reddy *et al.*, 2006). *L. manihotivorans* LMG 18010 diisolasi selama proses produksi tepung singkong asam di Columbia. *L. manihotivorans* merupakan spesies BAL homolaktat yang memproduksi asam laktat jenis L(+)-*lactic acid* (99%), menghasilkan enzim amilase sebesar 1.7 U/ml dan meningkat menjadi 13.2 U/ml pada pH 6-0 (Guyot *et al.*, 2000). Dalam Dupont *et al.* (2001) menyebutkan bahwa strain *L. manihotivorans* OND 32 dapat dimanfaatkan pada fermentasi suspensi tepung mentah (*crude flour suspensions-CFS*) dan fermentasi suspensi tepung tergelatinisasi (*gelatinized flour suspension-GFS*).

Penelitian terbaru bakteri asam laktat spesis *Lactobacillus* digunakan dalam proses fermentasi rumput laut. Proses fermentasi tersebut akan menghasilkan gula rumput laut (seaweed sugar) yang di dalamnya terdiri dari D-galactose, D-mannitol, L-rhamnose, D-glucuronic acid dan L-fucose (Hwang *et al.*, 2011)

## 2.4 *Rhizopus oligosporus*

Kapang *Rhizopus* termasuk ordo *Mucorales* kelas *Zygomycetes*. Ciri spesifik pada kapang ini adalah mempunyai hifa tidak bersepta dengan stolon dan rhizoid serta spora berwarna gelap ketika sudah tua. Hifa vegetatif pada *Rhizopus* akan melakukan penetrasi pada substrat dan mempunyai pertumbuhan cepat membentuk miselium (Fardiaz, 1992). Jenis *Rhizopus sp.* terutama *Rhizopus oligosporus* dapat tumbuh pada suhu 30-45°C (Han *et al.*, 2003). DeMan (1989) menyebutkan bahwa *Rhizopus oligosporus* banyak ditemui pada produk tempe dengan substrat kedelai. Madigan dan Martinko (2006) menyatakan bahwa *R. oligosporus* sebagai kapang pada fermentasi tempe. Kapang ini lambat laun akan membentuk spora berwarna abu-abu kehitaman sehingga menyebabkan warna menjadi gelap ketika *overtime* fermentasi.

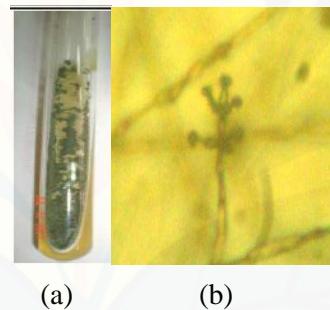
## 2.5 *Aspergillus niger*

Kapang dengan miselium berwarna kuning dan spora berbentuk bulat berwarna hitam merupakan ciri-ciri *Aspergillus niger*. Kapang ini merupakan kapang dari filum *Ascomycetes* yang memiliki filamen dengan hifa bersepta. Menurut Mardigan *et al.* (2006), *A. niger* dapat tumbuh optimum pada suhu 35-37°C. *A. niger* memiliki warna miselium kuning dengan lapisan kanidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. *A. niger* menghasilkan enzim ekstraselluler seperti protease, amilase dan manase (Mardigan dan Martinko, 2006). *A. niger* dapat menghasilkan jenis racun okratoksin yang dapat mengganggu kesehatan dan sulit dihilangkan selama pengolahan. Batasan konsumsi (ADI) okratoksin dari *A. niger* sebesar 0.2 sampai 1.6 µg OA/kg pada produk berkarbohidrat (Riemann and Oliver, 2006).

## 2.6 *Trichoderma* sp.

*Trichoderma* sp. merupakan jenis kapang selulolitik dan amilolitik pengurai bahan organik. *Trichoderma* sp. mempunyai indeks amilolitik sebesar 1,23 E-05 U/ml dan mempunyai aktivitas enzim selulase sebesar 5,727 E-05 U/ml (Kusnadi *et al.*, 2008). Koloni kapang *Trichoderma* sp. berwarna hijau pada media pertumbuhan berupa *Malt Extract Agar* (MEA). Bahan organik yang sering diuraikan adalah jenis bahan organik berupa sampah dedaunan atau kulit-kulit dari buah dan umbi-umbian. Jenis kapang ini banyak ditemukan pada sampah dan bersimbiosis mutualisme dengan mikroorganisme lain pembusuk sampah.

Pengamatan *Trichoderma* sp. pada mikroskop dapat dilihat pada Gambar 2.1. Terdapat cabang-cabang pada ujung miselium sehingga pertumbuhannya dapat mengarah ke samping atau ke atas sesuai dengan letak cabang sporangiumnya. Warna koloni *Trichoderma* sp. dapat dilihat pada Gambar 2.1 dibawah ini.



Gambar 2.1 (a) Koloni *Trichoderma* sp. pada MEA dan (b) *Trichoderma* sp. pada pengamatan mikroskop dengan perbesaran 400x (Kusnadi *et al.*, 2008).

## 2.7 Gatot Singkong

Masyarakat Indonesia mengenal gatot sebagai makanan tradisional hasil fermentasi secara spontan sedangkan warga di Afrika Barat tepatnya di Nigeria juga memproduksi makanan fermentasi dari singkong. Salah satu makanan hasil fermentasi singkong di Nigeria dikenal dengan istilah *fufu* (Emmanuel *et al.*, 2011). Di Indonesia, gatot terbuat dari gapplek. Gapplek sendiri terbuat dari singkong yang dikupas kemudian dikeringkan. Masyarakat umumnya membuat gapplek dengan cara sederhana yaitu singkong dikupas, utuh atau dibelah kemudian dijemur pada hamparan siang dan malam. Di beberapa daerah tertentu, dilakukan

fermentasi spontan pada gapplek menggunakan karung selama beberapa hari untuk memperoleh gapplek hitam. Terdapat dua jenis gapplek, yaitu gapplek yang putih biasa ditepungkan atau dibuat tiwul sedangkan gapplek hitam dilakukan proses lanjutan yaitu pengecilan ukuran, direndam, dikukus dan disebut gatot. Warna hitam terjadi karena adanya spora kapang yang menempel dan tumbuh pada gatot selama pengeringan awal serta tumbuh selama penyimpanan dalam karung. Gatot memiliki tekstur kenyal karena adanya aktivitas BAL selama perendaman (Kaka, 2007).

Menurut Guyot *et al.* (2000), spesies terbaru BAL amilolitik adalah *Lactobacillus manihotivorans* yang diisolasi dari produksi pati asam ubi kayu di Columbia. BAL amilolitik menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu amilase dan pululanase yang dapat menghidrolisis sebagian pati alami menjadi gula sederhana dan oligosakarida lain atau dekstrin (Sikorsi, 2002). Hidrolisis menyebabkan tekstur bahan kenyal karena terjadi perubahan rasio komposisi pati.

Pada pengeringan singkong (gapplek) juga disebutkan bahwa perubahan warna menjadi hitam disebabkan oleh enzim poliphenolase yaitu suatu oksidase yang terdapat pada lendir ketela pohon yang kontak dengan udara mengubah senyawa polifenol (tanin) menjadi senyawa yang berwarna hitam. Pencegahan dapat dilakukan dengan mencuci lendir yang terdapat di antara kulit dan daging ketela segera setelah ketela dikupas atau dipotong. Pengeringan dilakukan sampai kadar air 14-15 % (Winarno, 1993).

Pembuatan gatot dari gapplek sudah banyak dilakukan dan dikonsumsi dari jaman nenek moyang. Tetapi sekarang konsumsi gatot hanya terbatas pada warga di pedesaan ataupun di pedalaman saja. Gatot dijadikan sebagai makanan pokok karena komponen utamanya adalah karbohidrat sehingga dapat dijadikan sebagai sumber kalori. Pada Gambar 2.2 konsumsi gatot biasanya ditambah dengan parutan kelapa sebagai *topping* untuk menambah rasa.

Proses pembuatan gatot dimulai dengan mengupas kulit singkong, kemudian singkong dicuci bersih. Singkong yang telah melalui proses pencucian, penjemuran awal, fermentasi spontan dalam karung dan pengeringan akhir. Penjemuran singkong secara tradisional menggunakan sinar matahari selama lima

sampai tujuh hari yaitu dengan cara menyebar singkong di atas atap. Spora kapang alami akan menempel pada singkong selama penjemuran. Spora tersebut akan mengalami pertumbuhan secara alami pada singkong selama proses fermentasi. Singkong berubah warna secara spontan karena adanya pertumbuhan kapang tertentu. Setelah kering menghasilkan produk yang disebut gapplek. Gapplek kemudian direndam, dilakukan pengecilan ukuran dan dikukus sehingga menghasilkan gatot. Gatot mempunyai ciri-ciri dengan warna hitam dan tekstur kenyal (Soetanto, 2008).



Gambar 2.2 Gatot singkong yang ditambah dengan parutan kelapa (Kaka, 2007).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Pangan, Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Laboratorium Kimia-Biokimia Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilakukan pada bulan September 2013 sampai April 2014.

### 3.2 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah singkong varietas Valenca (Malang 4) dengan daging singkong berwarna putih, starter kapang dan bakteri asam laktat indigenus yang diperoleh dari fermentasi spontan gatot singkong. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis mikrobiologis antara lain media MRS (*de Mann Rogosa Sharp*) Broth dan Agar (MERCK, Jerman), media MEB (*Malt Extract Broth*) (MERCK, Jerman), agar bacteriological (OXOID, United Kingdom), CaCO<sub>3</sub> 3%, alkohol 70 % dan 95%, larutan kristal violet, larutan mordan, larutan safranin, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, spiritus, aquades dan aluminium foil. Bahan kimia untuk uji proksimat meliputi kertas saring, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, selenium, indikator metal biru dan metal merah, HCL 0,02 N, dan pelarut heksan.

#### 3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi peralatan proses pembuatan gatot singkong dan peralatan analisis untuk gatot singkong. Peralatan untuk proses produksi gatot singkong antara lain pisau, loyang alumunium, neraca analitik, baskom dan panci pengukus. Peralatan untuk mengisolasi kapang dan bakteri indigenus gatot singkong meliputi autoklaf (HL 306 Ae, Tokyo), inkubator (Heraeus, Jerman), oven (Memmert, Jepang), mikroskop binokuler (XSZ-107, China), cawan petri (Steriplan), tabung reaksi (Pyrex, Jerman), kit BBL *Crystal* (DB BBL *Crystal*<sup>TM</sup>: MIND software, USA) untuk identifikasi sifat biokimiawi

(pola fermentasi) BAL indigenus, beaker glass (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), mortar, pemanas air, pipet tetes, blue tip dan pipet mikro 1 ml. Peralatan analisis gatot singkong kukus dan kering meliputi kurs porselen, botol timbang, soxhlet (EME 3 8250, United Kingdom), labu kjeldhal (Buchi, Switzerland), tanur pengabuan (Nabertherm, Jerman), desikator, *colour reader* CR-10 (Minolta, Jepang) dan perangkat uji sensoris.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel penambahan starter indigenus dengan variasi penambahan starter indigenus kapang (*R. oligosporus*) pada fermentasi padat singkong dan variabel penambahan starter indigenus BAL (*L. manihotivorans*) selama proses perendaman gatot.

GS = Gatot terfermentasi spontan (kontrol)

GB = Gatot terfermentasi *L. manihotivorans*

GK = Gatot terfermentasi *R. oligosporus*

GKB = Gatot terfermentasi *R. oligosporus* dan *L. manihotivorans*

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak dua kali. Data hasil penelitian diolah menggunakan analisis deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel atau grafik yang disertai dengan standar deviasi atau *error bars*.

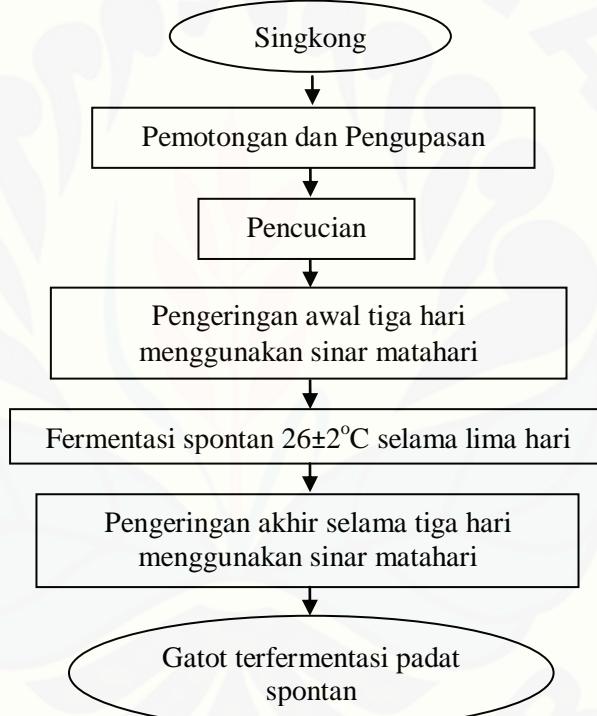
#### 3.3.2 Tahap Penelitian

Penelitian dilakukan dengan empat tahap yaitu tahap produksi gatot secara fermentasi spontan; tahap isolasi, identifikasi dan pembuatan starter kapang indigenus gatot; tahap isolasi, identifikasi dan pembuatan starter bakteri asam laktat (BAL) indigenus gatot; serta tahap produksi gatot secara fermentasi terkendali yang dilanjutkan dengan karakterisasi mutu fisik, kimia dan sensoris.

##### a. Produksi Gatot Secara Fermentasi Spontan.

Produksi gatot secara fermentasi spontan dilakukan dengan pembersihan singkong berupa pengupasan dan pencucian. Selanjutnya dilakukan pengeringan awal untuk memicu adanya spora alami yang secara spontan menempel dan

tumbuh pada singkong. Pengeringan ini dilakukan selama tiga hari dengan sinar matahari untuk mengkondisikan kadar air singkong sekitar 65-70% yang sesuai untuk tumbuhnya kapang. Fermentasi spontan singkong ini dilakukan selama lima hari dalam karung pada suhu ruang ( $26\pm2^{\circ}\text{C}$ ). Hasil fermentasi tersebut akan dikeringkan lagi (pengeringan akhir) untuk menghentikan aktifitas kapang pada gatot singkong. Proses ini akan menghasilkan gatot singkong mentah. Gatot singkong mentah mempunyai warna hitam yang tidak seragam dan merata karena proses inokulasi kapang berlangsung secara spontan sehingga tumbuhnya kapang tidak seragam dan merata. Diagram alir proses pembuatan gatot secara fermentasi spontan dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram alir proses pembuatan gatot singkong secara fermentasi spontan.

b. Isolasi, Identifikasi dan Pembuatan Starter Kapang Indigenus Gatot.

Isolasi kapang indigenus dilakukan untuk mengetahui jenis kapang yang tumbuh sehingga kapang yang dominan dan berciri baik dapat dijadikan starter indigenus. Kapang yang tumbuh pada gatot dapat menghasilkan perubahan warna gatot menjadi hitam.

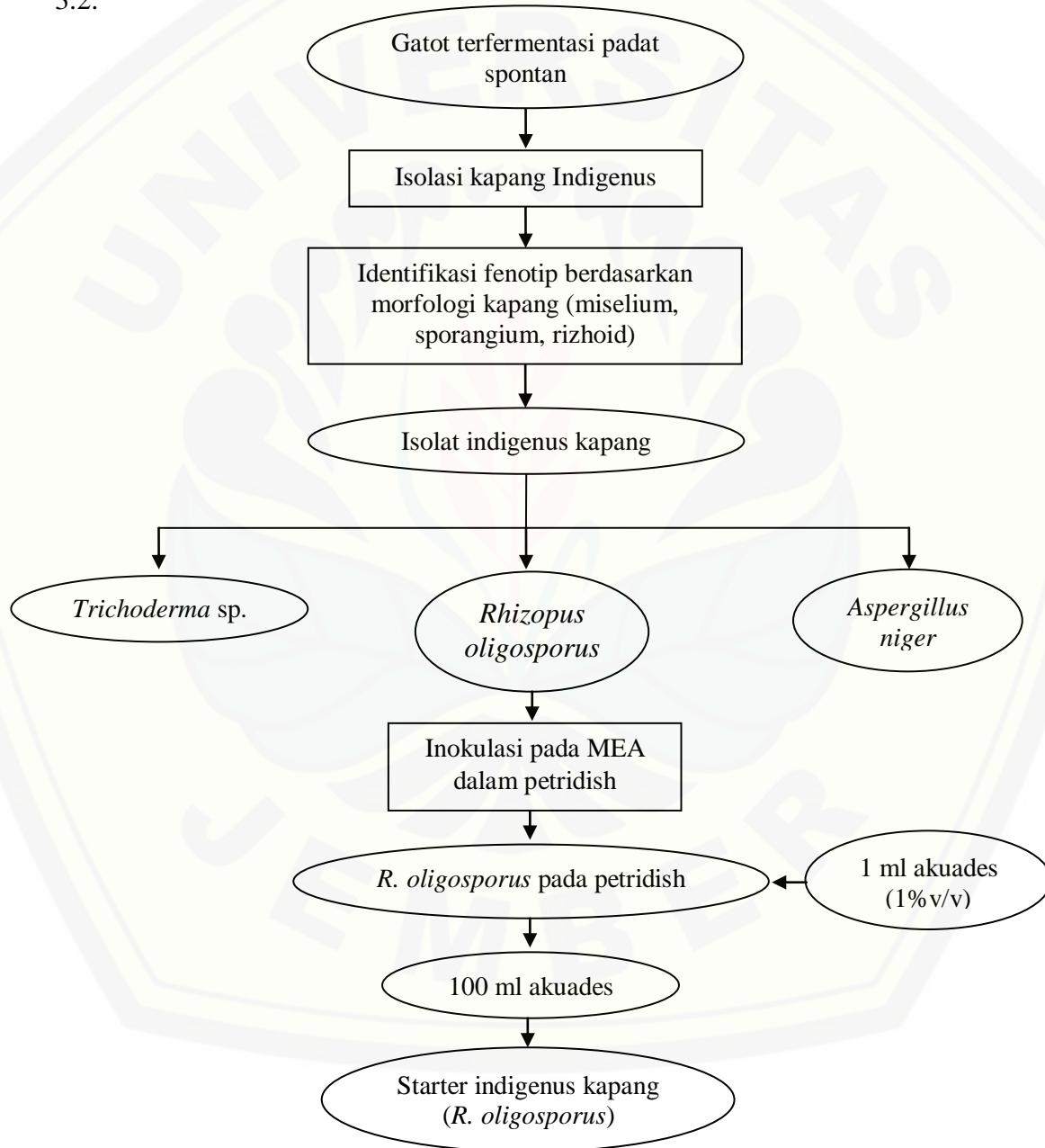
Isolasi kapang indigenus dari gatot singkong dilakukan dengan menyiapkan media pertumbuhan kapang yaitu media MEA (*Malt Extract Agar*) sebanyak 100 ml. Pembuatan MEA dilakukan dengan memanaskan 100 ml air berisi MEB sebanyak 1,5 gram dan *bacteriological agar* sebanyak 1,5 gram. Pemanasan serta pengadukan dilakukan sampai larutan media mendidih, homogen dan berwarna kuning jernih.

Media MEA tersebut segera dituang pada petrisih sebanyak 15 ml. Kapang diisolasi dari gatot yang berwarna hitam hasil proses fermentasi spontan. Bagian gatot berwarna hitam dicuplik dan ditumbuhkan pada media MEA. Kapang dominan yang tumbuh dan memiliki koloni berbeda (warna miselium, warna dan bentuk sporangium) diisolasi dan ditumbuhkan pada media MEA dengan cara goresan sinambung. Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama empat hari. Isolat murni kapang indigenus yang telah berspora kemudian digores pada media MEA miring dan diinkubasi 30°C selama 4 hari. Karakterisasi morfologi dan secara referensi terhadap isolat murni kapang dilakukan untuk memperoleh isolat yang aman sebagai starter.

Pengamatan kapang dilakukan secara visual (makroskopis) terhadap warna koloni dan sporangium isolat kapang indigenus. Identifikasi fenotip kapang indigenus meliputi identifikasi morfologi hifa/miselium, dan spora (Fardiaz, 1989). Identifikasi isolat kapang indigenus (kultur murni) dilakukan melalui pengamatan mikroskopis menggunakan metode *slide culture* (Pelczar and Reid, 1958). Metode *slide culture* dilakukan dengan penyiapan petridish yang di dalamnya berisi kaca objek dan kaca penutup yang telah disterilisasi pada oven 100°C selama empat jam. Langkah awal dimulai dengan meneteskan media MEA sebanyak dua tetes pada kaca objek. Selanjutnya ditambahkan satu ose isolat indigenus kapang pada MEA padat di atas kaca objek dan ditutup menggunakan kaca penutup. Petridish yang di dalamnya berisi kaca objek dan kaca penutup serta isolat kapang indigenus diinkubasi pada suhu 30°C selama empat hari.

Penyiapan starter kapang untuk fermentasi padat gatot singkong dimulai dengan menyiapkan dua petridish berisi isolat kapang indigenus, kemudian dilakukan pengambilan kapang pada petridish menggunakan ose kemudian

dimasukkan dalam 100 ml akuades. Akuades sebanyak 1ml (1% v/v) ditambahkan dalam petridish kemudian dipipet dan dimasukkan dalam 100 ml akuades steril. Penambahan 1 ml akuades pada petridish bertujuan untuk mengambil spora yang belum ikut terambil pada waktu pengambilan miselium kapang *R. oligosporus*. Starter kapang *R. oligosporus* dapat digunakan. Diagram alir proses isolasi, identifikasi dan pembuatan starter kapang indigenus dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Diagram alir proses isolasi, identifikasi dan pembuatan starter kapang indigenus gatot

### c. Isolasi, Identifikasi dan Pembuatan Starter Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus Gatot

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan untuk mengetahui jenis BAL yang tumbuh selama fermentasi terendam gatot sehingga BAL terpilih dapat digunakan sebagai starter indigenus. Menurut Reddy *et al.* (2008), BAL akan memfermentasikan pati terutama amilosa sehingga rasio amilopektin lebih tinggi dari pada amilosa pada gatot singkong sehingga menghasilkan tekstur kenyal.

Penyiapan media perlu dilakukan sebelum dilakukan isolasi BAL. Media MRSA digunakan untuk menumbuhkan BAL.  $\text{CaCO}_3$  3% b/v ditambahkan pada media MRSA sehingga dapat digunakan sebagai indikator pertumbuhan koloni BAL yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Media MRSA disiapkan dengan melarutkan dan memanaskan 6,82 gram MRSA ke dalam akuades sebanyak 100 ml sampai homogen dan ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  3% b/v. Selanjutnya media disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

BAL diisolasi dari proses fermentasi gatot dengan cara merendam gatot singkong mentah dalam air selama 24, 48 dan 72 jam. Sebanyak satu ml air rendaman gatot singkong diencerkan hingga  $10^{-2}$  pada larutan fisiologis (mengandung 0,85% NaCl). Hasil pengenceran tersebut dipupukkan dengan MRSA steril. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Dua koloni yang tumbuh dengan luas zona bening dominan diisolasi dan dikelompokkan berdasarkan tipe elevansi (bentuk koloni dan sudut penonjolan pada permukaan agar) dan warna koloni. Selanjutnya koloni dimurnikan dengan metode goresan kuadran hingga diperoleh koloni tunggal. Pembuatan kultur stok dari BAL dilakukan pada media MRSA miring.

Identifikasi bakteri asam laktat (BAL) meliputi identifikasi fenotip (morfologi) dan fisiologo BAL. Identifikasi fenotip BAL berdasarkan morfologi bakteri meliputi sifat gram positif, bentuk sel kokus atau batang dengan bentuk/tipe koloni tertentu (Ammor *et al.*, 2005). Identifikasi berdasarkan fisiologi meliputi katalase negatif, uji suhu pertumbuhan dan uji pola fermentasi dengan kit BBL *Crysta*.

Identifikasi fenotip berdasarkan sifat-sifat morfologi bakteri meliputi pewarnaan gram (Beel *et al.*, 2005). Sifat gram positif apabila setelah pewarnaan, sel bakteri berwarna ungu. Sifat gram negatif apabila setelah pewarnaan, sel bakteri berwarna merah muda.

Pewarnaan gram dilakukan dengan membersihkan kaca objek dengan alkohol 70%. Akuades diteteskan pada kaca objek kemudian ditambahkan satu ose bakteri umur 48 jam dan diratakan pada kaca objek. Selanjutnya dilakukan fiksasi untuk mematikan dan melekatkan bakteri pada gelas objek. Kristal violet diteteskan pada kaca objek dan dibiarkan selama satu menit berfungsi sebagai cat utama. Kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir dan selanjutnya ditetesi lautan mordan yang berfungsi untuk meningkatkan pengikatan zat warna oleh dinding sel bakteri. Tahap selanjutnya adalah pencucian dengan air mengalir dan dekolorasi dengan alkohol 95% untuk melunturkan warna sel bakteri. Noda yang sudah mengering ditetesi larutan safranin kemudian dicuci air mengalir dan dikeringanginkan. Pada penambahan safranin, bakteri gram positif akan berwarna biru karena dinding sel bakteri kuat mengikat zat warna. Pada bakteri gram negatif akan berwarna merah sampai merah muda karena cat utama hilang selama dekolorasi dan diganti oleh larutan safranin. Pengamatan noda yang terbentuk selama pewarnaan gram dilakukan dengan mikroskop untuk mengetahui warna dan bentuk gram BAL.

Identifikasi fenotip berdasarkan sifat-sifat fisiologi bakteri meliputi uji katalase (Beel *et al.*, 2005), uji suhu pertumbuhan (Fardiaz, 1989) dan uji pola fermentasi (Becton, 2010). Uji pola fermentasi dilakukan menggunakan kit BBL *Crystall*.

- Uji katalase (Beel *et al.*, 2005)

Katalase adalah enzim yang mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan  $O_2$ . Uji katalase dilakukan dengan mengambil koloni bakteri asam laktat dan diletakkan pada preparat kemudian ditetesi larutan  $H_2O_2$  3% dan didiamkan selama satu menit. Uji dinyatakan positif bila koloni BAL menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya

gelembung udara pada koloni BAL dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya gelembung udara pada koloni BAL.

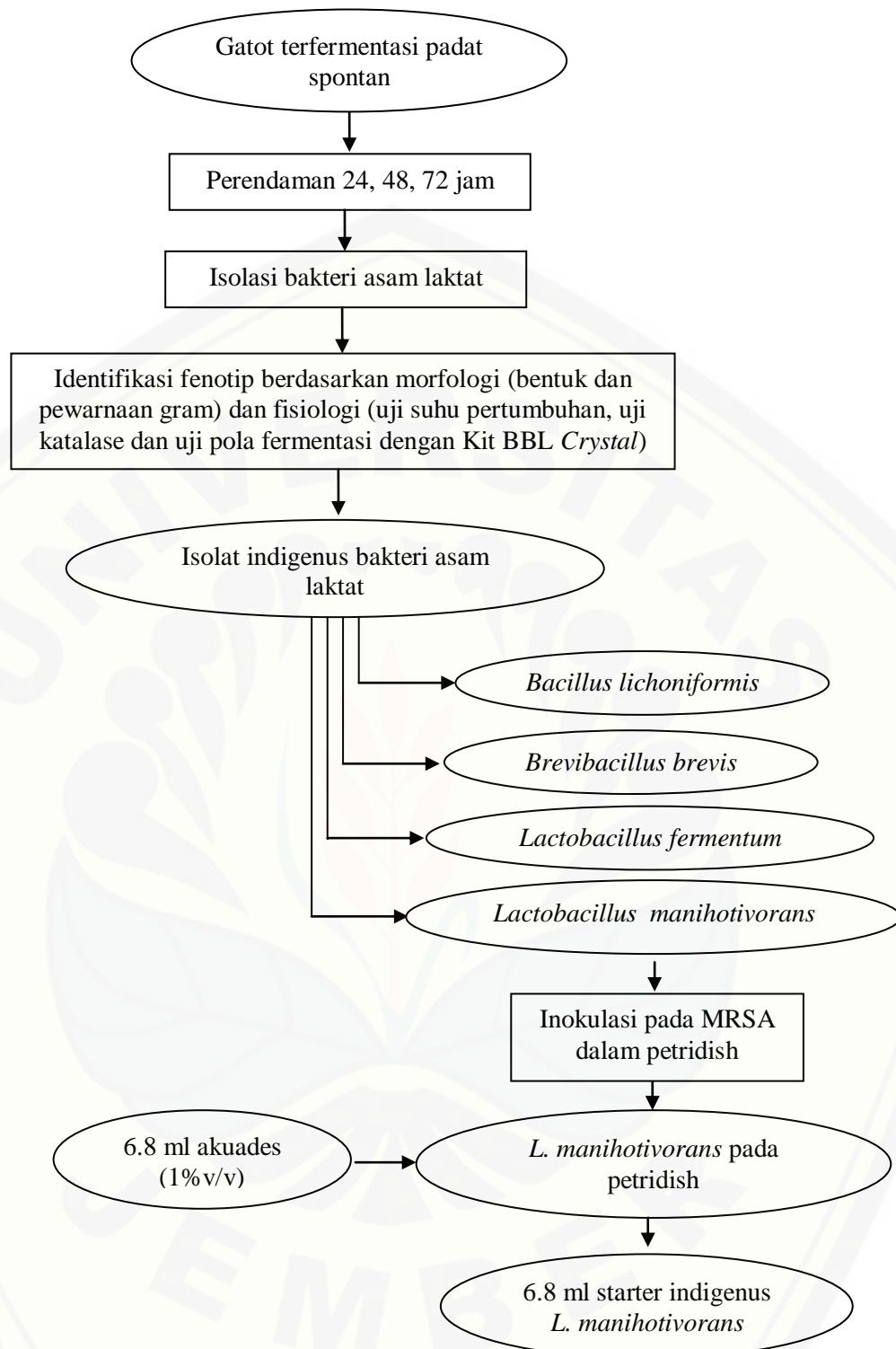
- Uji suhu pertumbuhan (Fardiaz, 1989)

Pada uji suhu pertumbuhan, isolat bakteri asam laktat yang telah diperoleh, diambil dan dimasukkan dalam larutan fisiologis sampai larutan keruh kemudian dipipet sebanyak 0,1 ml untuk ditumbuhkan pada lima ml MRSB dan diinkubasi pada suhu uji pertumbuhan 10°C, 37°C dan 50°C selama 48 jam.

- Uji pola fermentasi dengan menggunakan kit BBL *Crystal* (Becton, 2010).

Isolat BAL pada agar miring MRSA diambil sebanyak enam ose dan dimasukkan ke dalam lima ml larutan buffer fisiologis, selanjutnya dituang pada lubang-lubang *microtube* hingga penuh dan dipasangkan dengan *microtube* yang berisi 30 macam substrat. Kit BBL *Crystal* dijaga kelembabannya dengan ditutup menggunakan tisu yang dibasahi dengan aquades steril. Selanjutnya Kit BBL *Crystal* diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C dan diamati adanya perubahan warna atau terbentuknya pendar (*fluorosence*) pada *microtube* substrat. Selanjutnya data diolah menggunakan *software* kit BBL *Crystal*.

Pembuatan starter BAL dilakukan dengan menyiapkan isolat BAL dalam dua petridish, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 6.8 ml akuades (1% v/v dari 680 ml air perendam) dalam petridish. Penambahan akuades 6.8 ml berfungsi untuk mempermudah pengambilan koloni BAL menggunakan ose dan pipet mikro. Starter BAL yang sudah siap dapat dimasukkan dalam air perendam. Diagram alir proses isolasi, identifikasi dan pembuatan starter bakteri asam laktat indigenus gatot juga dapat dilihat pada Gambar 3.3



Gambar 3.3 Diagram alir proses isolasi, identifikasi dan pembuatan starter bakteri asam laktat indigenus gatot

#### d. Produksi Gatot Secara Fermentasi Terkendali

Tahap keempat dilakukan dengan produksi gatot singkong secara fermentasi terkendali menggunakan starter kapang dan BAL indigenus gatot serta fermentasi spontan gatot. Produksi gatot singkong dapat dibedakan menjadi dua tahap yaitu fermentasi padat menggunakan starter kapang indigenus (*R. oligosporus*) dan fermentasi terendam menggunakan starter BAL indigenus gatot (*L. manihotivorans*).

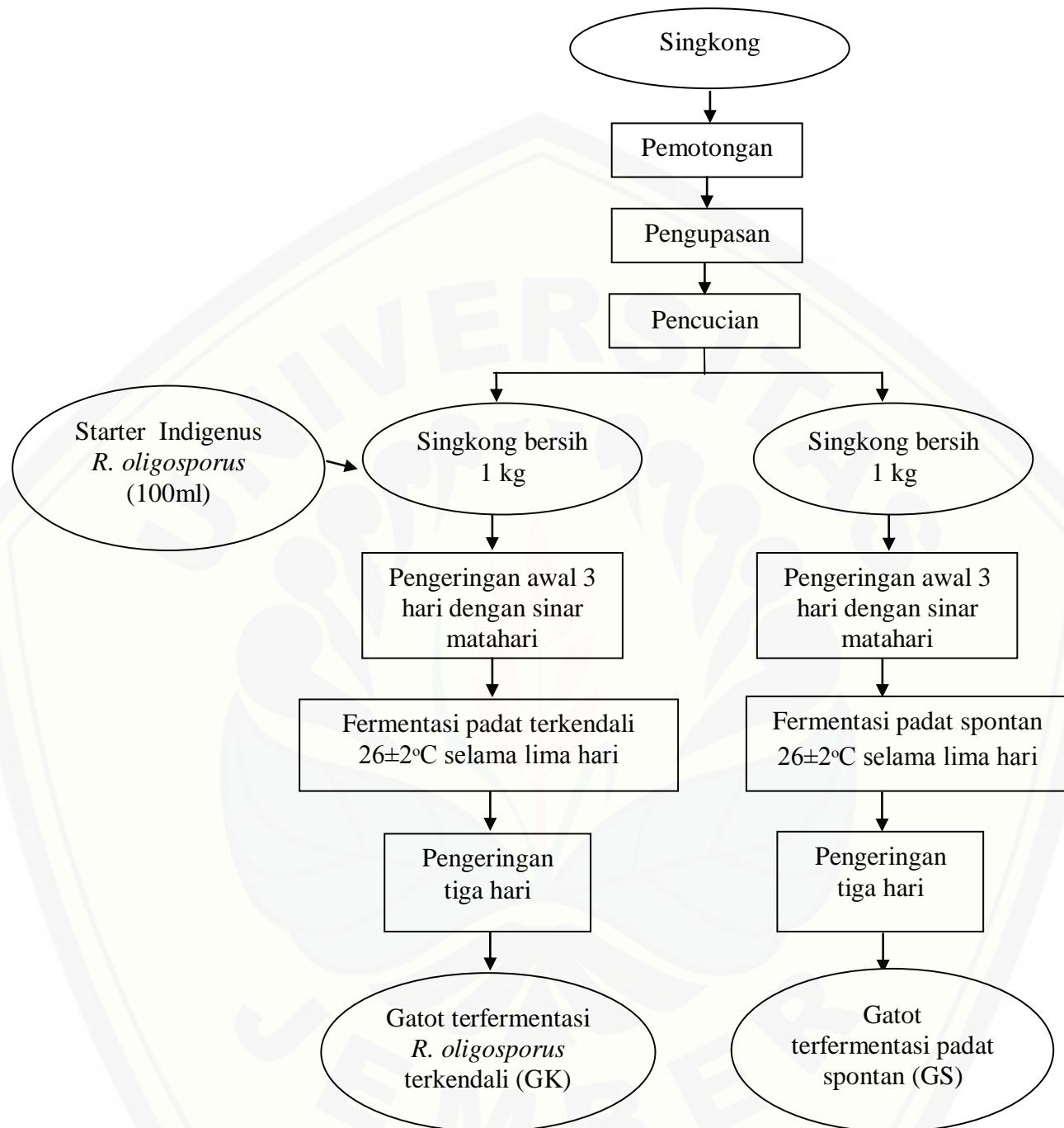
- Fermentasi Padat Gatot oleh Starter *R. oligosporus*

Fermentasi padat dilakukan dengan penyiapan bahan baku. Selanjutnya dilakukan dengan mengupas, memotong dan mencuci singkong segar. Fermentasi terkendali gatot singkong dilakukan dengan menambahkan starter indigenus kapang sebanyak 10% dari berat singkong. Penambahan starter kapang *R. oligosporus* sebanyak 100 ml sementara berat singkong segar sebanyak 1 kg. Pada fermentasi spontan tidak dilakukan penambahan starter kapang indigenus. Selanjutnya dilakukan pengeringan awal dengan sinar matahari selama tiga hari sampai kira-kira kadar air mencapai 65-70%. Singkong yang sudah setengah mengering, difermentasi padat (*solid state fermentation*) secara spontan dan terkendali dalam wadah karung pada suhu ruang ( $26\pm2^{\circ}\text{C}$ ) selama lima hari. Hasil fermentasi padat dari gatot singkong secara spontan dan terkendali dikeringkan lagi menggunakan sinar matahari. Diagram alir produksi gatot terfermentasi padat secara terkendali oleh *R. oligosporus* dan terfermentasi padat secara spontan dapat dilihat pada Gambar 3.4

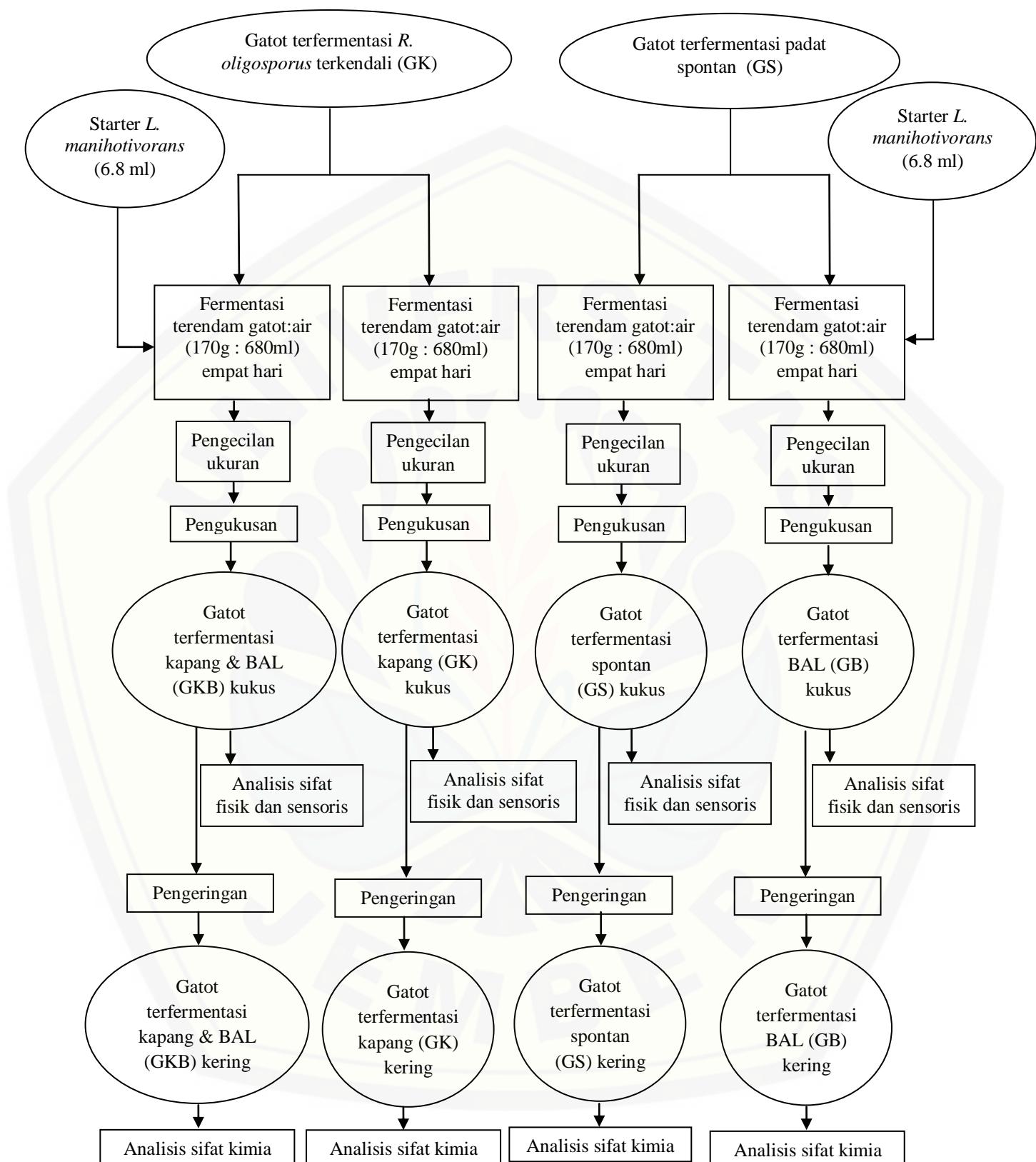
- Fermentasi Terendam Gatot oleh Starter *L. manihotivorans*

Fermentasi terendam (*submerged fermentation*) menggunakan perbandingan air sebanyak 680 ml dan gatot terfermentasi kapang sebanyak 170 gram. Fermentasi terendam gatot singkong dilakukan dengan dua variasi yaitu perendaman spontan tanpa penambahan BAL dan perendaman terkendali dengan penambahan isolat indigenus BAL. Perendaman secara terkendali dilakukan dengan penambahan starter indigenus BAL sebanyak 6.8 ml pada 680 ml air perendam gatot singkong. Perendaman gatot spontan tidak

dilakukan penambahan starter indigenus BAL. Perendaman dilakukan selama empat hari dan penggantian air dilakukan setiap dua hari sekali. Langkah selanjutnya adalah mencuci gatot singkong sampai bersih, memotong gatot singkong dengan ketebalan 0,7 cm dan dilakukan pengukusan gatot singkong selama 30 menit. Gatot singkong kukus dianalisis karakteristik warna dan tekstrur serta sensoris. Pengujian kadar abu, kadar air, kadar protein, kadar lemak dan kadar karbohidrat dilakukan terhadap gatot singkong kukus yang telah dikeringkan. Diagram alir produksi gatot terfermentasi terendam secara fermentasix terkendali dan spontan dapat dilihat pada Gambar 3.5



Gambar 3.4 Diagram alir produksi gatot terfermentasi padat secara terkendali oleh *R. oligosporus* dan terfermentasi padat secara spontan



Gambar 3.5 Diagram alir fermentasi terendam secara terkendali oleh *L. manihotivorans* dan fermentasi terendam secara spontan pada produksi gatot

### 3.4 Parameter Analisis terhadap Gatot

Analisis terhadap gatot singkong kukus dan kering dilakukan melalui karakterisasi sifat fisik, kimia dan uji sensoris. Analisis terhadap sifat fisik yaitu warna dengan *colour reader* (Hutching, 1999). Karakteristik kimia meliputi kadar air metode thermogravimetri (Sudarmadji *et al.*, 1997), kadar abu metode thermogravimetri (AOAC, 2005), kadar protein metode mikro kjeldhal (Sudarmadji *et al.*, 2007), kadar lemak metode soxhlet (Sudarmadji *et al.*, 2007) dan kadar karbohidrat dengan metode *by Different* (AOAC, 2005). Hasil perhitungan sifat kimia akan dinyatakan dalam persen berat kering (% berat kering). Uji sensoris dilakukan secara penskalaan menurut Meilgaard *et al.*, (1999).

## 3.5 Prosedur Analisis

### 3.5.1 Sifat Fisik

- Pengukuran Warna Alat Colour Reader (Hutching, 1999)

*Colour reader* mulai dioperasikan dengan menekan tombol ON. Standarisasi alat digunakan dengan mengarahkan alat ke porselen berwarna putih kemudian ditekan tombol target. Lensa pada *colour reader* ditempelkan pada permukaan sampel lalu tombol ditekan untuk memperoleh nilai L, a dan b. Selanjutnya alat ditempelkan pada sampel sehingga dapat diperoleh nilai L, a dan b sampel. Hasil nilai L, a, dan b tersebut dikonversikan dan dihitung *whiteness*/warnanya dengan rumus:

$$\text{Whiteness} = 100 - [(100-L)^2 + (a^2 + b^2)]^{0.5}$$

Nilai L menyatakan *lightness* sample, semakin tinggi nilai L maka sampel semakin terang. Nilai a maka menunjukkan warna sampel antara merah sampai hijau. Nilai b menunjukkan warna sampel kuning sampai biru.

### 3.5.2 Sifat Kimia

- Kadar Air Metode Termogravimetri (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan metode pemanasan. Prinsipnya adalah menguapkan molekul air ( $H_2O$ ) bebas yang ada dalam sampel.

Kemudian sampel ditimbang sampai didapat bobot konstan yang diasumsikan. Semua air yang terkandung dalam sampel sudah diuapkan. Selisih bobot sebelum dan sesudah pengeringan merupakan banyaknya air yang diuapkan. Prosedur analisis kadar air sebagai berikut: botol timbang yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak dua gram dalam botol timbang yang sudah dikeringkan (B) kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama enam jam lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang (C). Tahap ini diulangi hingga dicapai bobot yang konstan (selisih penimbangan kurang dari 0,2 mg). Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\%b$$

Keterangan:

a = berat botol timbang kosong

b = berat sampel + botol timbang

c = berat botol timbang + sampel setelah dioven

#### - Kadar Abu Metode Termogravimetri (AOAC, 2005)

Analisis kadar abu dilakukan menggunakan metode oven. Prinsipnya adalah pembakaran atau pengabuan bahan-bahan organik yang diuraikan menjadi air ( $H_2O$ ) dan karbondioksida ( $CO_2$ ) tetapi zat anorganik tidak terbakar. Zat anorganik ini disebut abu.

Prosedur analisis kadar abu sebagai berikut: cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak dua gram dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap dan dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur bersuhu 550-600°C sampai pengabuan sempurna. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap ini diulangi sampai didapat bobot yang konstan (selisih penimbangan kurang dari 0,2 mg) Kadar abu dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{C-A}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A = berat cawan kosong

B = berat sampel

C = berat cawan + sampel setelah diabukan

- Kadar Protein Metode Mikro Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Analisis kadar protein dilakukan dengan metode mikrokjeldahl. Prosedur analisis protein adalah: sampel ditimbang sebanyak 0,1 g kemudian dimasukkan ke dalam labu kjeldahl lalu ditambahkan 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan 0,9 g selenium. Dekstruksi 45 menit, ditambahkan 5 ml aquades. Larutan didestilasi dan destilat ditampung erlenmeyer berisi 15 ml larutan asam borat 4% dan beberapa tetes indikator metal biru dan metal merah (MM & MB). Titrasi dengan larutan HCl 0,02 N hingga berubah warna ungu. Blanko diperoleh dengan cara yang sama namun tanpa menggunakan sampel. Kadar protein sampel dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar nitrogen} = \frac{(ml \text{ HCl sampel} - ml \text{ blanko})}{g \text{ sampel} \times 1000} \times N \text{ HCl} \times 100\% \times 14,008$$

Kadar protein = kadar nitrogen x FK

FK= 6,25

- Kadar Lemak Metode Soxhlet (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Analisis kadar lemak dilakukan dengan metode soxhlet. Prinsipnya adalah lemak yang terdapat dalam sampel diekstrak dengan menggunakan pelarut lemak non polar. Prosedur analisis kadar lemak sebagai berikut: dua gram sampel ditimbang sebagai B. Kemudian sampel dimasukkan dalam kertas saring dan dihitung beratnya (A), diekstraksi dengan sokhlet berisi pelarut heksan selama empat jam. Sampel diambil dan dioven 60°C, ditimbang (C) dan diulang hingga berat konstan (selisih penimbangan 0,2 mg). Kadar lemak dihitung dengan mengurangkan berat kertas saring.

$$\text{Kadar lemak} = \frac{A - C}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A = berat sampel + kertas saring sebelum diekstrak

B = berat sampel

C = berat sampel + kertas saring setelah diekstrak

- Kadar Karbohidrat dengan Metode *by Difference* (AOAC, 2002)

Perhitungan karbohidrat dengan metode *by Difference* adalah penentuan karbohidrat dalam bahan secara kasar, melalui pengurangan 100% total komponen kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Metode *by Difference* diketahui melalui perhitungan:

$$\% \text{ karbohidrat} = 100\% - (\% \text{ protein} + \% \text{ lemak} + \% \text{ abu} + \% \text{ air})$$

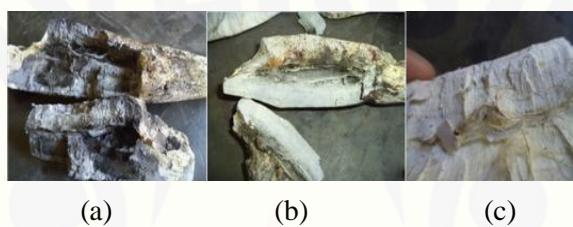
### 3.5.3 Analisis Mutu Sensoris (Meilgaard *et al.*, 1999)

Evaluasi mutu sensoris terhadap gatot singkong dilakukan menggunakan uji skoring. Panelis yang digunakan sebanyak 30 orang dan merupakan panelis semi terlatih yang merupakan civitas akademika Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Jember. Penggunaan label pada sampel menggunakan tiga angka acak yang bertujuan untuk menghindari adanya kesalahan persepsi angka dari panelis. Panelis diminta memberi penilaian terhadap parameter gatot singkong kukus meliputi parameter warna dari putih sampai hitam/gelap, aroma dari aroma off odor sampai aroma khas gatot singkong, rasa gatot dari rasa hambar/netral sampai asam dan rasa gatot dari pahit sampai netral/hambar, tekstur dari keras sampai kenyal serta tingkat kesukaan secara keseluruhan dari tidak suka sampai suka. Kuisioner penelis dapat dilihat pada Lampiran I.

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Gatot Singkong Terfermentasi Spontan

Gatot dibuat dari bahan dasar singkong varietas Valenca (Malang 4) dan daging singkong memiliki warna putih. Fermentasi singkong yang sudah mengalami pengeringan awal dilakukan secara spontan dalam karung. Hasil fermentasi tersebut akan dikeringkan lagi sehingga dihasilkan gatot singkong. Gatot singkong dari proses fermentasi spontan ditunjukkan oleh Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil fermentasi spontan gatot singkong: (a) warna hitam merata, (b) warna hitam kurang merata dan (c) warna tetap putih

Singkong mengandung karbohidrat terutama amilosa dan amilopektin sehingga terjadi pertumbuhan kapang selama fermentasi spontan. Kapang amilolitik yang tumbuh secara spontan dapat beraneka ragam misalnya dari jenis *Neurospora sitophila*, *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp. dan sebagainya. Kapang tersebut dapat menghidrolisis pati karena memiliki aktivitas amilolitik. Fardiaz (1992) menyebutkan bahwa salah satu spesies *Rhizopus* sp. yaitu *R. oligosporus* memiliki hifa vegetatif. Hifa vegetatif dapat berpenetrasi pada substrat dan dengan cepat membentuk miselium. Miselium ini menghasilkan sporangium yang semakin lama (semakin tua) warnanya berubah menjadi gelap. Hal tersebut menyebabkan substrat berubah warna menjadi hitam keabu-abuan. Akan tetapi pertumbuhan kapang pada gatot singkong tidak terkendali sehingga pertumbuhan kapang tidak merata. Hal ini mengakibatkan gatot singkong memiliki warna yang beragam (Gambar 4.1) yaitu ada yang berwarna hitam, warna hitam kurang merata ataupun tidak terbentuk warna hitam pada gatot singkong.

#### 4.2 Isolat Kapang Indigenus dari Gatot Terfermentasi Spontan

Kapang yang tumbuh dominan dengan warna miselium dan sporangium yang berbeda pada gatot singkong hasil fermentasi spontan telah berhasil diisolasi. Kapang yang dominan dimurnikan sehingga diperoleh tiga isolat kapang indigenus pada media MEA. Isolat indigenus kapang murni pada media MEA miring dapat dilihat pada Gambar 4.2. Identifikasi secara makroskopis meliputi warna miselium dan spora serta identifikasi secara mikroskopis dapat menunjukkan ciri-ciri kapang sehingga dapat diketahui jenis kapang tersebut.



(a) (b) (c)

Gambar 4.2 Isolat kapang indigenus pada media *Malt Extract Agar* miring: (a) *Rhizopus oligosporus*, (b) *Trichoderma* sp. dan (c) *Aspergillus niger*

##### 4.2.1 *Rhizopus oligosporus*

Morfologi kapang *Rizhopus oligosporus* dapat diketahui menggunakan metode *slide culture*. Pengamatan mikroskopiknya dilakukan dengan perbesaran 100x dan 400x dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.3.



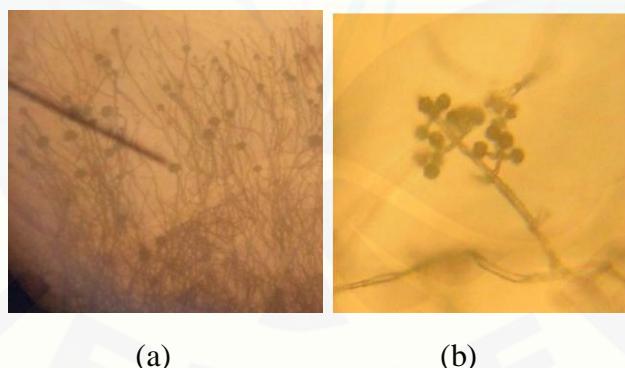
(a) (b)

Gambar 4.3 Pengamatan morfologi *Rhizopus oligosporus* secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran (a) 100x dan (b) 400x

Kapang yang memiliki miselium berwarna putih dengan spora berwarna gelap/abu-abu merupakan kapang *R. oligosporus*. Berdasarkan pengamatan visual, kapang terdiri dari benang-benang hifa yang berwarna putih dan memiliki sporangium berwarna abu-abu sampai gelap jika sudah tua. Berdasarkan pengamatan mikroskopik, stolon halus dan sporangiofor tumbuh dan mengarah ke udara baik tunggal maupun dalam kelompok. Rhizoid tumbuh ke bawah sehingga membentuk *root* dan sporangium berbentuk bulat. Spora bergabung membentuk bulatan kompak menjadi sporangium (Syarief *et al.*, 2012). Hifa kapang ini akan tumbuh memanjang dan membengkok. Menurut Gunter (2005), kapang *Rhizophorus oligosporus* memiliki rhizoid atau hifa vegetatif yang dapat menembus substrat dan berfungsi untuk menghidrolisis bahan organik. Kapang *R. oligosporus* memiliki aktivitas amilase sehingga mudah tumbuh pada substrat yang mengandung pati tinggi.

#### 4.2.2 *Trichoderma* sp.

Morfologi *Trichoderma* sp. disajikan pada Gambar 4.4. Pengamatan morfologi *Trichoderma* sp. menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x.



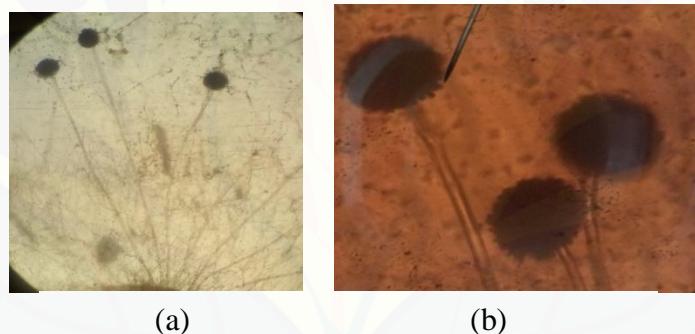
Gambar 4.4 Pengamatan morfologi *Trichoderma* sp. secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran: (a) 100x dan (b) 400x

Kapang yang memiliki miselium, spora dan koloni berwarna hijau serta koloni saling memisah merupakan jenis kapang *Trichoderma* sp. *Trichoderma* sp. sering tumbuh pada bahan organik dan berfungsi mendegradasi bahan organik menjadi senyawa yang lebih sederhana. Menurut Kusnadi *et al.* (2008)

*Trichoderma sp.* merupakan jenis kapang selulolitik dan amilolitik pengurai bahan organik. Berdasarkan pengamatan visual, hifa *Trichoderma* sp. yang dihasilkan juga tidak memanjang tetapi bercabang ke samping. Hasil pengamatan morfologinya menurut Prasetyo (2006) menunjukkan bahwa hifa *Trichoderma* sp. terbentuk melalui cabang dari sporangium sehingga tumbuhnya akan memanjang ke samping. Miselium ini akan memanjang ke samping dan lama kelamaan akan terbentuk sporangium. Dari sporangium tersebut akan terbentuk percabangan sehingga membentuk sporangium lagi (Susilowati *et al.*, 2002).

#### 4.2.3 *Aspergillus niger*

Pengamatan mikroskopik pada *Aspergillus niger* dapat dilihat pada Gambar 4.5. Sporangium dari *A. niger* berbentuk bulat besar dan kompak. Hifa yang tumbuh akan memanjang ke atas dan tidak membengkok atau bercabang ke samping.



Gambar 4.5 Pengamatan morfologi *Aspergillus niger* secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran: (a) 100x dan (b) 400x

Mardigan *et al.*, (2006) menyebutkan bahwa kapang *A. niger* memiliki miselium berwarna kuning dan spora berbentuk bulat dan berwarna hitam serta tumbuh optimum pada suhu 35-37°C. Pengamatan visual (makroskopik) selama penelitian menunjukkan bahwa kapang ini memiliki miselium berwarna kuning dan ketika sporangium terbentuk, sporangium berwarna hitam tebal, berbentuk bulat dan berukuran lebih besar dibanding sporangium *R. oligosporus*. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Mardigan *et al.*, (2006). Sporangium yang terbentuk juga menghasilkan warna hitam. Spora terdapat pada konidia. Kumpulan konidia membentuk sporangium (Syarief *et al.*, 2012). Sporangium *A. niger* yang

berwarna hitam pekat ini diidentifikasi mengandung okratoksin A. Batasan konsumsi OA (ADI) sebesar 0.2 sampai 1.6 µg OA/kg (Riemann and Cliver, 2006).

Isolat kapang indigenus gatot singkong yang telah diidentifikasi antara lain *R. oligosporus*, *A. niger* dan *Trichoderma* sp.. Berdasarkan karakteristik kapang-kapang tersebut maka dipilihlah kapang *R. oligosporus* yang memiliki sifat menguntungkan. Sifat tersebut antara lain memiliki rhizoid sehingga dapat menembus substrat, semakin lama membentuk miselium dan sporangium berwarna hitam keabu-abuan dan merubah substrat menjadi berwana hitam, tidak menghasilkan toksin seperti *A. niger* dan banyak dimanfaatkan secara umum bila dibandingkan *Trichoderma* sp. yang banyak tumbuh pada sampah organik dan jarang dimanfaatkan dalam produksi pangan.

#### **4.3 Isolat Bakteri Asam Laktat Indigenus Gatot Singkong**

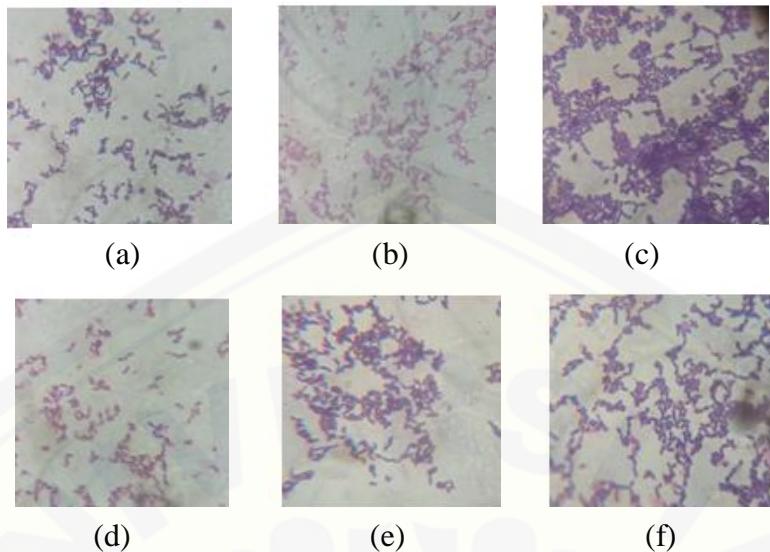
Enam isolat BAL diisolasi dari air rendaman gatot singkong hasil fermentasi spontan selama 24, 48 dan 72 jam. Terdapat enam isolat BAL yang berhasil diisolasi berdasarkan perbedaan tipikal koloni dan luas zona bening yang dihasilkan. Keenam isolat murni BAL tersebut memiliki sifat morfologi yaitu gram positif, berbentuk batang dengan tipikal koloni berbentuk bulat ataupun lonjong, berwarna putih susu dengan elevansi cembung dan adanya zona bening di sekitar koloni. Bakteri yang diisolasi masing-masing memiliki karakteristik morfologi dan fisiologi seperti terlihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Karakteristik morfologi dan fisiologi bakteri asam laktat dari air rendaman gatot singkong

Isolat BAL	Tipikal koloni	Karakteristik Morfologi			Karakteristik fisiologi							Spesies Bakteri (Kit BBL Crystal)				
		Gram	Bentuk sel	Enzim katalase	Suhu pertumbuhan (°C)					10°C	24 jam 37°C	50°C	10°C	48 jam 37°C	50°C	
					10°C	24 jam 37°C	50°C	10°C	48 jam 37°C	50°C	24 jam 37°C	50°C	10°C	48 jam 37°C	50°C	
A1	Bulat, putih, elevansi cembung	Positif	Batang	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	<i>Lactobacillus manihotivorans</i>
A2	Lonjong, putih, elevansi cembung	Positif	Batang	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	<i>Bacillus licheniformis</i>
B1	Lonjong, putih, elevansi cembung	Positif	Batang	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	<i>Brevibacillus brevis</i>
B2	Bulat, putih, elevansi cembung	Positif	Batang	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	<i>No identification</i>
C1	Bulat, putih, elevansi cembung	Positif	Batang	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	<i>Lactobacillus fermentum</i>
C2	Bulat bergelombol, putih, elevansi cembung	Positif	Batang	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	<i>Lactobacillus manihotivorans</i>

Keterangan:  
A1, A2 = isolat BAL dari air rendaman gatot selama 24 jam  
B1, B2 = isolat BAL dari air rendaman gatot selama 48 jam  
C1, C2 = isolat BAL dari air rendaman gatot selama 72 jam  
+ = menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri  
- = menunjukkan uji katalase negatif dan tidak terdapat pertumbuhan bakteri (pada uji suhu pertumbuhan)

Karakterisasi morfologi enam isolat BAL dilakukan melalui pewarnaan gram dan pengamatan secara mikroskopik menggunakan mikroskop elektron. Hasil pengamatan pada masing-masing isolat menunjukkan bahwa sel bakteri berbentuk batang dan berwarna ungu setelah pewarnaan gram sehingga bakteri asam laktat ini bersifat gram positif. Hasil pengamatan melalui mikroskop dapat dilihat pada Gambar 4.6. Secara umum bakteri gram positif menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat menguntungkan atau baik untuk dikonsumsi misalnya *Lactobacillus bulgaricus*, *Acetobacter xylinum* dan sebagainya.



Gambar 4.6 Pewarnaan gram dan pengamatan sel bakteri asam laktat secara mikroskopis pada pengamatan perbesaran 1000x masing-masing isolat (a) A1, (b) isolat B1, (c) isolat C1, (d) isolat A2, (e) isolat B2 dan (f) isolat C2

Pengamatan terhadap karakteristik fisiologis BAL dilakukan melalui uji suhu pertumbuhan dan uji katalase. Selain itu juga dilakukan uji pola fermentasi bakteri asam laktat menggunakan kit BBL *Crystall*.

a. Uji suhu pertumbuhan

Suhu pertumbuhan mikroorganisme dapat dibedakan menjadi suhu minimum, optimum dan maksimum. Enam isolat bakteri asam laktat diuji suhu pertumbuhannya pada tiga variasi suhu yaitu 10°C, 37°C dan 50°C. Lama inkubasi untuk masing-masing isolat yaitu 48 jam.

Hasil uji suhu pertumbuhan menunjukkan bahwa isolat BAL bersifat mesofilik karena tumbuh optimum pada suhu 37°C dan tidak dapat tumbuh pada suhu 10°C dan 50°C. Nurhayati (2011) menjelaskan bahwa BAL dapat tumbuh baik pada suhu 35°C. Isolat BAL A1 dan A2 menunjukkan pertumbuhan BAL yang cepat setelah inkubasi 24 jam sedangkan isolat B1, B2, CI, dan C2 membutuhkan waktu tumbuh selama 48 jam.

Pertumbuhan isolat diketahui dari adanya warna keruh dari media cair untuk pertumbuhan BAL. Lay (1994) menjelaskan bahwa *Bacillus* sp. dan

*Clostridium* sp. dapat tumbuh selama waktu inkubasi 4-5 hari. Bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* sp. dapat tumbuh selama waktu inkubasi 24-48 jam.

b. Uji katalase

Uji katalase menunjukkan sifat dari bakteri terhadap kebutuhannya akan oksigen. Bakteri aerob yang memiliki enzim katalase akan bersifat katalase positif karena bakteri tersebut dapat memecah  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen sedangkan bakteri anaerob bersifat katalase negatif (Fardiaz, 1989). Adanya gelembung pada koloni bakteri yang ditetesi dengan larutan  $H_2O_2$  3% membuktikan bahwa bakteri tersebut bersifat katalase positif. Bakteri yang bersifat katalase negatif tidak menghasilkan gelembung setelah ditetesi  $H_2O_2$  3%.

Uji katalase yang dilakukan terhadap enam isolat menunjukkan bahwa enam isolat tidak menghasilkan gelembung setelah ditetesi  $H_2O_2$  3%. Hal ini menunjukkan bahwa enam isolat tidak memiliki enzim katalase yang memecah  $H_2O_2$ . Katalase negatif berarti isolat tersebut bersifat anaerob. Salah satu ciri dari bakteri asam laktat adalah bersifat anaerob pada isolasi bakteri selama fermentasi kakao (Hidayat, 2006). Salminem *et al.*, (2004) menyebutkan bahwa bakteri asam laktat bersifat mikroaerofilik sampai anaerob.

c. Uji pola fermentasi dengan kit BBL *Crystal*

Identifikasi fisiologi menggunakan kit BBL *Crystal* dilakukan untuk mengetahui pola fermentasi berupa substrat yang dapat dihidrolisis oleh mikroba. Selanjutnya melalui program *software* kit BBL *Crystal* akan diketahui strainnya (Becton, 2010).

Berdasarkan uji menggunakan kit BBL *Crystal* diperoleh lima strain teridentifikasi dan satu strain yang tidak dapat diidentifikasi oleh *software* kit BBL *Crystal*. Isolat A1 termasuk dalam strain *Lactobacillus manihotivorans*, isolat A2 merupakan strain *Bacillus licheniformis*, isolat B1 merupakan strain *Brevibacillus brevis*, isolat B2 tidak dapat diidentifikasi, isolat C1 merupakan strain *Lactobacillus fermentum* dan isolat C2 merupakan strain *Lactobacillus manihotivorans* (Lampiran D.3 dan D.4).

Isolat hasil uji kit BBL *Crystal* menunjukkan isolat BAL yang dapat memfermentasikan substrat sakarida yaitu glukosa, sukrosa, manitol, arabinosa,

fruktosa, dan maltotriosa. Sikorsi (2002) menyebutkan bahwa BAL mampu menghasilkan enzim amilase dan pululanase sehingga bersifat amilolitik. BAL akan menghidrolisis sebagian pati alami menjadi gula sederhana ataupun oligosakarida lain. Selanjutnya BAL akan memfermentasi gula sederhana tersebut untuk metabolisme dan pertumbuhan BAL.

Dari kelima strain bakteri asam laktat tersebut, kemudian dipilih strain BAL *Lactobacillus manihotivorans*. Pemilihan ini berdasarkan referensi yang telah dilaporkan oleh Guyot *et al.* (2000) bahwa *L. manihotivorans* LMG 18010 merupakan spesies BAL homolaktat yang memproduksi asam laktat jenis L(+)-*lactic acid*, menghasilkan enzim amilase sebesar 1.7 U/ml dan meningkat menjadi 13.2 U/ml pada pH 6-0. Berdasarkan hasil identifikasi selama penelitian, *L. manihotivorans* memiliki ciri-ciri tipikal koloni bulat putih, gram (+), selnya berbentuk batang, tidak memiliki enzim katalase dan dapat tumbuh pada suhu 37°C selama inkubasi 24-48 jam. Berdasarkan uji pola fermentasi menggunakan kit BBL *Crystal*, *L. manihotivorans* dapat memfermentasikan substrat berupa laktosa, sukrosa, manitol, maltotriosa, arabinosa, fruktosa dan galaktosida.

#### 4.4 Gatot Singkong Terfermentasi Spontan dan Terkendali

Gatot hasil fermentasi spontan memiliki warna hitam yang kurang merata. Hal tersebut terjadi karena kapang yang tumbuh berasal dari spora alami sehingga fermentasi oleh kapang hanya terdapat pada bagian-bagian tertentu dari substrat singkong.

Proses produksi gatot singkong menggunakan starter indigenus berupa kapang *R. oligosporus* dan bakteri asam laktat strain *L. manihotivorans* menghasilkan kenampakan gatot yang baik. Dari segi warna, gatot yang diproses melalui fermentasi terkendali menggunakan *R. oligosporus* memiliki warna dengan dominasi hitam yang hampir merata karena adanya penambahan starter kapang. Warna hitam pada gatot disebabkan karena *R. oligosporus* memiliki hifa vegetatif yang dapat menembus substrat sehingga dapat menghidrolisis singkong. Ferdiaz (1992) melaporkan bahwa hifa ini akan membentuk miselium dan sporangium. Sporangium semakin tua akan berubah warna menjadi hitam keabu-

abuan. Sporangium yang menua akan menyebabkan substrat berwarna hitam keabu-abuan. Hasil fermentasi padat gatot singkong dapat dilihat pada Gambar 4.7.



(a)

(b)

Gambar 4.7 Gatot singkong hasil: (a) fermentasi padat terkendali menggunakan starter indigenus kapang *R. oligosporus* dan (b) fermentasi spontan tanpa penambahan starter indigenus

Proses fermentasi lanjutan adalah proses fermentasi terendam menggunakan isolat indigenus strain *L. manihotivorans*. Starter dibuat dengan menambahkan 1% v/v isolat indigenus pada air perendam. *L. manihotivorans* akan menghidrolisis substrat selama fermentasi terendam. Pada penelitian ini, terdapat pertumbuhan bakteri asam laktat pada air rendaman gatot singkong. Hal tersebut dibuktikan dengan terjadinya perubahan pH air rendaman yang diukur menggunakan kertas laksus. pH air rendaman pada gatot terfermentasi kapang dan BAL (GKB) yaitu 5 dan pH air rendaman pada gatot terfermentasi BAL (GB) yaitu 5. pH air rendaman pada gatot terfermentasi kapang (GK) yaitu 5.5 dan pH air rendaman pada gatot terfermentasi spontan (GS) yaitu 6. Pada fermentasi terendam dengan penambahan BAL, pH lebih rendah dibanding pada fermentasi terendam gatot yang tidak dilakukan penambahan BAL. Hal tersebut terjadi karena tumbuhnya BAL dominan lebih banyak daripada fermentasi terendam spontan. Menurut Guyot et al. (2000) spesies BAL *L. manihotivorans* menghasilkan asam L (+)-laktat (99%).

Bakteri ini menghasilkan enzim amilase dan mendegradasi amilosa sehingga rasio amilosa akan menurun dan menyebabkan komposisi amilopektin menjadi lebih tinggi. Pengukusan yang dilakukan pada proses pemasakan gatot singkong menyebabkan terjadinya proses gelatinisasi pati sehingga teksturnya menjadi empuk dan kenyal. Gatot singkong kukus seperti yang disajikan pada Gambar 4.8.

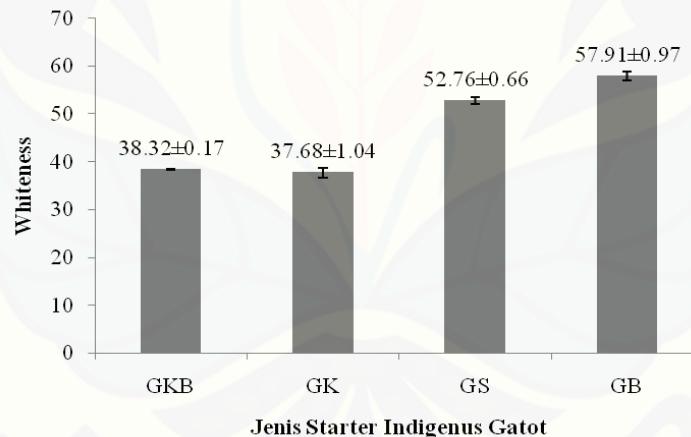


Gambar 4.8 Gatot kukus hasil fermentasi spontan dan terkendali dengan starter indigenus:  
 (a) gatot kontrol/fermentasi spontan (GS), (b) gatot terfermentasi BAL (GB),  
 (c) gatot terfermentasi kapang (GK), dan (d) gatot terfermentasi kapang dan  
 BAL (GKB)

## 4.5 Karakteristik Fisik Gatot Singkong Kukus

### 4.5.1 Warna

Pengukuran warna dilakukan pada gatot singkong kukus. Gatot tersebut dihancurkan dengan tujuan untuk menghomogenkan warna karena pada perlakuan fermentasi spontan, warna hitam yang terbentuk kurang merata. Hasil pengukuran *whiteness*/warna dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Whiteness/warna pada gatot singkong kukus (GKB = gatot terfermentasi kapang dan BAL, GK = gatot terfermentasi kapang, GS = gatot kontrol/fermentasi spontan, GB = gatot terfermentasi BAL)

Gambar 4.9 menunjukkan bahwa untuk GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) dan GK (gatot terfermentasi kapang) relatif lebih rendah dibanding GS (gatot terfermentasi spontan) dan GB (gatot terfermentasi BAL). Semakin tinggi *whiteness* maka warna gatot kukus semakin putih (cerah) dan semakin rendah maka warna gatot singkong semakin hitam. *Whiteness* paling tinggi adalah GB

(gatot terfermentasi BAL) sebesar 57.91, kemudian GS (gatot terfermentasi spontan) sebesar 52.76, GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) sebesar 38.32 dan terendah GK (gatot singkong terfermentasi kapang) sebesar 37.68. Gatot singkong terfermentasi kapang memiliki *whiteness* rendah sehingga warna gatot lebih hitam seragam dibandingkan dengan gatot singkong terfermentasi kapang secara spontan. Warna hitam gatot dapat seragam karena dilakukan fermentasi padat secara terkendali oleh kapang *R. oligosporus*. Fardiaz (1992) melaporkan bahwa *R. oligosporus* memiliki hifa yang berpenetrasi ke substrat sehingga membentuk miselium. Miselium akan tumbuh dengan cepat dan membentuk sporangium yang semakin lama berwarna abu-abu kehitaman sehingga menyebabkan substrat berwarna hitam.

Gatot yang terfermentasi kapang secara spontan mempunyai warna hitam yang kurang merata karena adanya kapang *R. oligosporus* berasal dari spora alami sehingga tumbuhnya tidak merata. Hal tersebut menyebabkan GB (gatot terfermentasi BAL) dan GS (gatot terfermentasi spontan) memiliki perbedaan warna setelah fermentasi spontan dan pengukusan (Gambar 4.8). Dari segi warna, gatot singkong yang terfermentasi kapang secara terkendali (GKB dan GK) memiliki warna hitam yang lebih merata dibandingkan gatot singkong terfermentasi spontan (GS dan GB).

#### 4.6 Karakteristik Kimia Gatot Singkong Kering

Gatot singkong yang telah dikukus kemudian dikeringkan sehingga diperoleh gatot singkong kering. Pengeringan dilakukan secara manual menggunakan sinar matahari selama tiga hari. Analisis terhadap karakteristik kimia dilakukan pada gatot singkong kering yang meliputi kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak dan kadar karbohidrat. Komposisi kimia gatot singkong disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Komposisi kimia gatot singkong

Komposisi Kimia	Jenis Gatot			
	GKB	GK	GS	GB
Kadar air (%)	13.51±0.02	12.54±0.06	12.73±0.33	13.15±0.03
Kadar abu (% bk)	0.65±0.02	0.62±0.01	0.59±0.06	0.61±0.03
Kadar protein (% bk)	9.59±0.09	9.53±0.08	9.77±0.09	9.74±0.04
Kadar lemak (% bk)	3.32±0.61	2.28±0.81	3.15±0.39	3.45±0.01
Kadar karbohidrat (% bk)	72.93±0.65	75.03±0.95	73.77±0.08	73.06±0.12

#### 4.6.1 Kadar Air

Kadar air (berat basah) pada gatot singkong kering dapat dilihat pada Tabel 4.1. Kadar air gatot singkong kering dengan variasi perlakuan berupa fermentasi terkendali dan fermentasi secara spontan berurutan dari tertinggi sampai yang terendah. Kadar air GKB (gatot singkong terfermentasi kapang dan BAL) sebesar 13.51%, kadar air GB (gatot singkong terfermentasi BAL) sebesar 13.15%, kadar air GS (gatot singkong terfermentasi spontan/kontrol) sebesar 12.73% dan selanjutnya kadar air GK (gatot singkong terfermentasi kapang) sebesar 12.54 %.

Kadar air pada GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL), GB (gatot terfermentasi BAL), GK (gatot terfermentasi kapang) dan GS (gatot terfermentasi spontan) relatif sama. Bila dibandingkan dengan tepung gaplek yang memiliki kadar air sebesar 14.5% bb, kadar air gatot singkong yang dihasilkan memiliki kadar air yang lebih rendah. Hal tersebut terjadi karena proses pengukuran kadar air gatot dilakukan pada gatot singkong yang mengalami gelatinisasi kemudian dikeringkan kembali. Gelatinisasi menyebabkan ukuran granula pati mengembang sehingga mengalami proses pengeluaran air yang lebih banyak selama pengeringan.

#### 4.6.2 Kadar Abu

Analisis kadar abu dilakukan sesuai dengan metode termogravimetri. Pengukuran kadar abu bertujuan untuk mengetahui jumlah mineral yang ada dalam gatot singkong. Kadar abu dinyatakan dalam persentase berat kering (%)

bk). Hasil pengukuran kadar abu secara kuantitatif disajikan pada Tabel 4.1. Kadar abu gatot singkong GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) sebesar 0.65%, kadar abu GK (gatot terfermentasi kapang) sebesar 0.62%, kadar abu GB (gatot terfermentasi BAL) sebesar 0.61% dan kadar abu GS (gatot terfermentasi spontan) sebesar 0.59%. Gatot singkong memiliki kadar abu yang relatif sama pada setiap perlakuan. Kadar abu pada gatot singkong lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar abu dari gapelek singkong yaitu sekitar 0.082% (Emmanuel *et al.*, 2011). Hal tersebut dikarenakan adanya pertumbuhan kapang dan BAL selama proses produksi gatot dapat berpotensi menjadi abu selama analisis kadar abu.

#### 4.6.3 Kadar Protein

Analisis kadar protein dilakukan menggunakan metode mikro kjeldahl. Kadar protein pada empat jenis gatot singkong dapat dilihat pada Tabel 4.1. Kadar protein pada GS (gatot terfermentasi spontan) sebesar 9.80%, GB (gatot terfermentasi BAL) sebesar 9.74%, GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) sebesar 9.59% dan GK (gatot terfermentasi kapang) sebesar 9.53%. Hasil perhitungan kadar protein gatot singkong relatif sama pada variasi perlakuan. Gatot singkong memiliki kadar protein yang lebih tinggi dibanding kadar protein pada gapelek yang hanya 1.75% (Direktorat Gizi Depkes RI, 2002). Kapang menghasilkan enzim amilase, lipase dan protease dan BAL menghasilkan enzim amilase yang tinggi sehingga enzim-enzim ini dapat teridentifikasi sebagai protein selama analisis kadar protein.

#### 4.6.4 Kadar Lemak

Kadar lemak untuk gatot singkong dianalisis menggunakan metode soxhlet. Analisis kadar lemak bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan lemak hasil dari proses produksi gatot singkong. Data kadar lemak gatot singkong dapat dilihat pada Tabel 4.1. Kadar lemak pada GB (gatot terfermentasi BAL) sebesar 3.45%, kemudian GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) sebesar

3.32%, lalu GS (gatot terfermentasi spontan) sebesar 3.16% dan GK (gatot terfermentasi kapang) sebesar 2.28%.

Keempat sampel gatot singkong dengan perbedaan perlakuan diatas memiliki kadar lemak yang relatif sama. Hasil pengolahan singkong misalnya gapplek memiliki kadar lemak sebesar 0.82% dan lebih rendah dibanding kadar lemak pada gatot singkong. Hal tersebut terjadi karena adanya proses fermentasi terendam pada proses produksi gatot yang melibatkan BAL. BAL terdiri dari komponen glikolipid sehingga diduga BAL tersebut dapat meningkatkan komponen lemak pada gatot singkong.

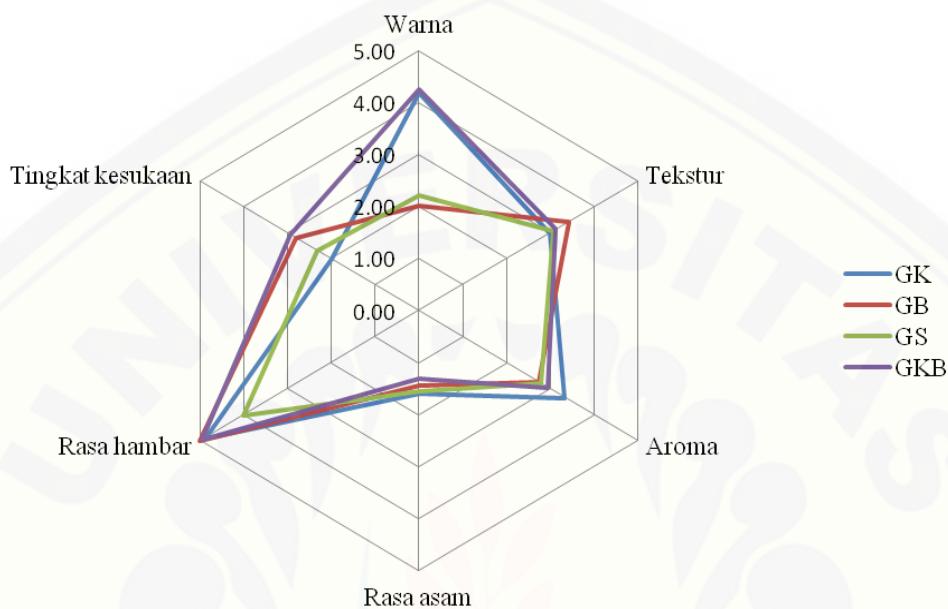
#### 4.6.5 Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat pada gatot singkong dihitung dengan metode *by Different*. Analisis ini bertujuan untuk mengetahui kadar karbohidrat yang terdapat pada gatot singkong. Data hasil perhitungan kadar karbohidrat (% berat kering) ditunjukkan pada Tabel 4.1. Kadar karbohidrat pada GK (gatot terfermentasi kapang) sebesar 75.04%, kemudian GS (gatot terfermentasi spontan) sebesar 73.73%, GB (gatot terfermentasi BAL) sebesar 73.05% dan GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) sebesar 72.93%. Keempat gatot singkong berbeda perlakuan tersebut, memiliki kadar karbohidrat yang relatif sama. Kadar karbohidrat pada gatot singkong lebih rendah bila dibandingkan dengan kadar karbohidrat hasil diversifikasi singkong lainnya misalnya gapplek yang mencapai 95.76% (berat kering). Analisis karbohidrat gatot singkong memiliki kadar yang rendah karena pengukurannya menggunakan metode *by different* yang merupakan hasil pengurangan dari kadar-kadar kimia pada bahan baik padatan maupun kandungan airnya .

#### 4.7 Karakteristik Sensoris Gatot Singkong Kukus

Karakteristik sensoris gatot singkong kukus dilakukan secara deskriptif menggunakan penskalaan. Parameter yang digunakan oleh panelis adalah warna, tekstur, aroma, rasa dan tingkat kesukaan konsumen. Sampel kode 798 merupakan sampel GS (gatot kontrol/fermentasi spontan), sampel kode 746 merupakan

sampel GB (gatot terfermentasi BAL, sampel kode 230 merupakan sampel GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) dan sampel kode 113 merupakan sampel GK (gatot terfermentasi kapang). Karakteristik sensoris dinyatakan dalam diagram jaring laba-laba dan dapat dilihat pada Gambar 4.10



Gambar 4.10 Karakteristik sensoris gatot singkong kukus dalam diagram jaring laba-laba; gatot kontrol/fermentasi spontan(GS), gatot terfermentasi BAL (GB), gatot terfermentasi kapang (GK), dan gatot terfermentasi kapang dan BAL (GKB)

Hasil uji sensoris terhadap parameter warna berturut-turut menunjukkan bahwa warna gatot singkong yang paling hitam adalah GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) dan diikuti oleh GK (gatot terfermentasi kapang), GS (gatot terfermentasi spontan) kemudian GB (gatot terfermentasi BAL). Panelis lebih memilih GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL) dan GK (gatot terfermentasi kapang) karena warna hitam lebih dominan akibat proses fermentasi terkendali gatot singkong menggunakan starter indigenus *R. oligosporus*. Fardiaz (1992) menyebutkan bahwa hifa vegetatif *R. oligosporus* dapat berpenetrasi pada substrat sehingga dapat membentuk miselium. Miselium dapat tumbuh dan membentuk sporangium. Sporangium ini dapat berubah warna menjadi abu-abu kehitaman setelah beberapa lama. Gatot singkong memiliki ciri khas berwarna hitam sehingga tingkat kesukaan terhadap warna gatot hitam (GKB dan GK) lebih tinggi daripada GS (gatot terfermentasi spontan) dan GB (gatot terfermentasi BAL). GS

dan GB secara umum warna hitamnya kurang merata karena fermentasi padatnya dilakukan secara spontan. Kapang yang tumbuh secara spontan hanya berasal dari spora alami (lingkungan) sehingga jumlahnya akan sedikit dan pertumbuhannya kurang merata pada substrat singkong.

Gambar 4.10 juga menunjukkan karakteristik sensoris tekstur. Tingkat kesukaan panelis terhadap tekstur paling tinggi berturut-turut adalah GB (gatot terfermentasi BAL), GKB (gatot terfermentasi BAL dan kapang), GS (gatot terfermentasi spontan) kemudian GK (gatot terfermentasi kapang). Jumlah populasi BAL pada fermentasi terendam secara terkendali akan lebih tinggi daripada BAL pada fermentasi terendam secara spontan, sehingga BAL pada fermentasi terkendali menghidrolisis komponen amilosa pati secara maksimal dibanding dengan fermentasi terendam secara spontan. Diduga hidrolisis oleh BAL menyebabkan rasio amilosa menurun dan rasio amilopektin menjadi dominan tinggi. Rasio amilopektin yang tinggi menyebabkan tekstur gatot singkong akan semakin kenyal. Selain itu, Subagio (2006) menyatakan bahwa bakteri amilolitik yang menghidrolisis pati dapat menjadikan derajat polimerisasi pati rendah sehingga meningkatkan viskositas dan penyerapan air selama gelatinisasi.

Perbedaan tekstur yang lebih tinggi pada GB (gatot terfermentasi BAL) dibanding GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL). Hal tersebut dikarenakan pada GB, BAL menghidrolisis amilosa dan terjadi perubahan struktur granula menjadi lebih amorf (berongga). Dupont *et al.* (2001) menyebutkan struktur granula pati berubah reologinya menjadi lebih berongga ketika dilihat pada SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Pada GKB, kapang menghidrolisis amilosa tanpa merubah struktur reologi granulanya dan fungsi BAL dalam menghidrolisis dan merubah struktur granula menjadi kurang maksimal. Sajilata *et al.* (2006) menyebutkan bahwa struktur yang lebih porus dapat menurunkan suhu gelatinisasi dan meningkatkan viskositas. Tekstur yang disukai panelis selanjutnya adalah GS (gatot terfermentasi secara spontan) lalu GK (gatot terfermentasi kapang). Kedua jenis gatot tersebut mengalami fermentasi terendam

secara spontan sehingga populasi BAL kurang maksimal dalam menghidrolisis amilosa.

Parameter aroma mengarah pada bau khas gatot singkong atau bau menyimpang misalnya *off odor*. Bau yang menyimpang bisa disebabkan karena proses fermentasi, perendaman atau kebersihan yang kurang terjaga. Parameter aroma yang disukai penelis berturut-turut adalah GK (gatot terfermentasi kapang), diikuti oleh GKB (gatot terfermentasi kapang BAL), GS (gatot terfermentasi spontan) dan terakhir dipilih panelis adalah GB (gatot terfermentasi BAL). Parameter aroma ini mengarah pada bau khas dari gatot singkong tanpa ada bau asam yang terasa. Bau asam kurang dapat diidentifikasi oleh panelis karena proses pencucian dilakukan secara berulang setelah proses fermentasi terendam oleh BAL. Bau khas gatot disebabkan oleh adanya aktivitas kapang selama fermentasi padat yaitu kapang *R. oligosporus*. *R. oligosporus* mampu menghrolisis pati sehingga menghasilkan aldehid-aldehid tertentu. Hidrolisis pati mensintesa gugus metabolit berupa gugus glukosa dan dekstrosa. Gugus tersebut menghasilkan aroma khas yang terbentuk selama fermentasi. Gugus-gugus tersebut dapat berubah selama pemanasan dan pengeringan sehingga menghasilkan aroma yang khas.

Karakteristik sensoris berdasarkan rasa menunjukkan bahwa gatot singkong berasa hambar. Hal tersebut didukung oleh panelis yang menyatakan bahwa rasa gatot kukus cenderung hambar. Rasa asam dan pahit juga dapat dirasakan oleh panelis tetapi masih bisa ditolelir.

Nilai rasa asam yang diidentifikasi panelis dari gatot singkong dari rendah ke tinggi yaitu GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL), diikuti oleh GB (gatot terfermentasi BAL), GS (gatot terfermentasi spontan) kemudian GK (gatot terfermentasi kapang). Semakin rendah nilai sensoris rasa dari gatot singkong maka gatot singkong kukus yang dihasilkan akan terasa hambar dan khas gatot singkong. Semakin tinggi nilainya maka gatot singkong terasa asam tetapi rasa asam ini masih bisa ditoleransi oleh panelis. Pada fermentasi oleh BAL, rasa asam rendah pada gatot terfermentasi BAL baik GKB maupun GB. Hal tersebut terjadi

karena granula pati lebih berongga berdasarkan scanning SEM sehingga asam-asam yang dihasilkan BAL mudah hilang/luruh selama pencucian.

Rasa pahit menurut penilaian panelis juga ada pada gatot singkong kukus tetapi hanya sebagian kecil. Semakin tinggi nilai rasa hambar (pada Gambar 4.10) menunjukkan bahwa rasa pahit semakin sedikit dan mengarah pada rasa gatot singkong yang hambar/khas singkong. Rasa pahit terasa pada sebagian kecil gatot singkong yang diproses melalui spontan dan fermentasi terkendali. Rasa pahit tertinggi adalah GS (gatot terfermentasi spontan), kemudian GK (gatot terfermentasi kapang) dan terakhir adalah GKB (gatot terfermentasi kapang BAL). Sedangkan pada GB (gatot terfermentasi BAL) panelis tidak menemukan rasa pahit pada gatot. Adanya rasa pahit pada GS dikarenakan tumbuhnya kapang yang belum diketahui jenisnya (fermentasi spontan-GS) sehingga metabolit yang dihasilkan oleh varietas kapang tersebut juga berbeda, misalnya metabolit dari *A. niger* berupa Okratoksin A. Pada isolasi dan identifikasi kapang yang telah dilakukan, gatot terfermentasi spontan memiliki beberapa varietas kapang yang tumbuh dominan (Gambar 4.2). Pada GK dan GKB juga terdapat rasa pahit tetapi hal tersebut diperoleh dari kapang. Penambahan starter yang terlalu banyak dan terlalu lama fermentasi yang dilakukan dapat menyebabkan kapang jenis *R. oligosporus* menghasilkan antibiotik dan rasa pahit. Steenkraus (1995) menyebutkan bahwa *R. oligosporus* menghasilkan antibiotik setelah spora menua terlalu lama yang bisa menimbulkan rasa pahit.

Tingkat kesukaan panelis mengarah pada warna hitam dan kekenyalan. Tingkat kesukaan panelis terhadap gatot menunjukkan bahwa semakin tinggi nilainya maka tingkat kesukaan panelis semakin tinggi. Tingkat kesukaan dari terendah adalah GK (gatot terfermentasi kapang), diikuti oleh GS (gatot terfermentasi spontan), GB (gatot terfermentasi BAL) dan nilai tertinggi adalah GKB (gatot terfermentasi kapang dan BAL). Fermentasi menggunakan kapang dan BAL pada gatot singkong (GKB) lebih disukai oleh panelis secara keseluruhan karena berwarna hitam akibat aktivitas kapang *R. oligosporus* dan lebih terasa kenyal akibat *L. manihotivorans* daripada gatot yang hanya berwarna hitam saja (GK). GB (gatot terfermentasi BAL) menjadi pilihan kedua yang

disukai panelis karena tekstur kenyal yang dihasilkan sebagai ciri-ciri gatot. Tekstur kenyal dikarenakan aktivitas BAL selama fermentasi terkendali gatot singkong. Pilihan terakhir panelis berdasarkan tingkat kesukaan adalah gatot terfermentasi kapang (GK) karena pada GK teksturnya kurang kenyal. BAL secara umum bekerja mendegradasi pati sehingga nilai viskositasnya tinggi dan ketika pemanasan proses gelatinisasinya tinggi. Emmanuel (2005) melaporkan bahwa BAL akan menghidrolisis amilosa karena kemampuan amilolitik BAL. Diduga karena hal tersebut maka rasio amilosa menurun dibanding amilopektin. Amilopektin mempunyai sifat yang menyebabkan tekstur menjadi kenyal.

Parameter-parameter uji sensoris yang sudah dinilai menghasilkan tingkat kesukaan konsumen yang bervariasi terhadap gatot singkong. Sebagian besar panelis lebih menyukai kombinasi tekstur kenyal gatot dan warna hitam (GKB), kemudian gatot dengan tekstur kenyal (GB) dibanding fermentasi spontan (GS) atau gatot yang berwarna hitam saja tetapi keras (GK).

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Beberapa hal yang dapat disimpulkan dari penelitian ini antara lain:

1. Tiga isolat kapang indigenus gatot singkong yaitu *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus niger* dan *Trichoderma* sp. serta isolat bakteri asam laktat (BAL) indigenus dari air rendaman gatot yaitu *Lactobacillus manihotivorans*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacillus brevis* dan *Lactobacillus fermentum*.
2. Isolat terpilih sebagai starter indigenus adalah *Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans*.
3. Tingkat kesukaan panelis terhadap gatot singkong yaitu GKB (memiliki kombinasi warna hitam dan tekstur kenyal) dan GB (memiliki tekstur kenyal).
4. Sifak fisik warna (*whiteness*) dari gatot terfermentasi sebesar 37.68-57.91 dan sifat kimiawi dari gatot terfermentasi meliputi kadar air sebesar 12.54%-13.51% (bb), kadar abu sebesar 0.59%-0.65% (bk), kadar protein sebesar 9.53%-9.77% (bk), kadar lemak 2.28%-3.32% (bk) dan kadar karbohidrat sebesar 72.93%-75.04% (bk).

### 5.2 Saran

Perlu uji untuk mengetahui aktivitas amilolitik pada kapang maupun BAL. Uji amilosa dan amilopektin gatot juga perlu dilakukan untuk memperkuat pernyataan tentang kekenyalan. Pembuatan starter masih dalam bentuk cair sehingga perlu adanya starter padat untuk mempermudah pengaplikasian fermentasi terkendali di masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agati, V., Guyot, J.P., Morlon-Guyot, J., Talamond, P., and Hounhouigan, D.J., 1998. Isolation and Characterization of New Amylolytic Strains of Lactobacillus fermentum from Fermented Maize Doughs (Mawe` and Ogi) from Benin. *Journal of Applied Microbiology*, 85: 512–520.
- Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Prevost, H., Dousset, X., Zagorec, M., Dufour and Chevallier. 2005. Phenotypic and Genotypic Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated From a Small-Scale Facility Producing Traditional Dry Sausages. *J Food Microbiology Australian*, 22: 373–382.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of The Association Analytical Chemist*. USA: Washington D. C. Inc
- Badan Pusat Statistik. 2014. *Berita Resmi Statisti: Produksi Pala dan Palawija, No: 45/07/35/Th VII, 2014*. Jawa Timur: Badan Pusat Statistik Jawa Timur.
- Becton. 2010. *BBL Crystal Mind*. USA: Dickinson Company.
- Bell, C., Neaves, P., and Williams, A. P. 2005. *Food Microbiology: Laboratory Practice*. USA: Blackwell Publishing.
- DeMan, J.M. *Kimia Makanan*. Terjemahan oleh Padmawinata K. 1989. Bandung: ITB Press.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 2002. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Dupont, S., Guyot, J. P., Mouquet, C and Treche, S. 2001. *Amylolitic Lactic Acid Bacteria: New Prospect for Complementary Food Productin*. Vienna: Institute de Recherche Pour le developpement, WHO Collaborating center for Nutrition at International Center Of Nutrition.
- Emanuel, C. 2005. “Pengaruh Fosforilasi dan Penambahan Asam Stearat Terhadap Karakteristik Film Edible Pati Sagu”. Tidak Diterbitkan Tesis. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Emmanuel, C. A., Eneji, C. A., and Osuchukwu, N. C. 2011. *Functional and Sensory Properties of Iron Fortified West African Cassava Fermented Meals; “Gari” and “Fufu”*. Nigeria: Department of Biochemistry University of Calabar.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Perindustrian*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

- Gunter, R. 2005. *Rhizopus Soil Microbiology*. <http://soils1.cses.ut.edu/>. [15 Oktober 2013].
- Guyot, J. P., Calderon, M., and Guyot, J.M. 2000. Effect of pH Control on Lactit Acid Fermentation on Starch by *Lactobacillus manihotivorans* LMG 18010. *Journal of applied Microbiology*, 88: 176-182.
- Han, M., Rombouts and Nout. 2003. Effects of Temperature and Relative Humidity on Growth and Enzyme Production by *Actinomucor elegans* and *Rhizopus oligosporus* During Sufu Pehtze Preparation. *Food Chem.*, 81: 27-34.
- Handoko. 2009. Ubi Kayu. <http://www.iptek.id.net/ind/pd-tanobat>. [29 Maret 2013].
- Hidayat, M. T. 2006. "Potensi Agensia Kapang Isolat Bakteri Asam Laktat dari fermentasi Kakao terhadap Pertumbuhan *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. pada Biji Kakao". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Hutching, J. B. 1999. *Food Colour and Apearance*. Maryland: Aspen Publiser Inc.
- Hwang, H. J., Lee Shin, J., Kim, S. M. and Lee, S. B. 2011. Fermentation of Seaweed Sugars by *Lactobacillus* Species and the potential of Seaweeds as a Biomassa Feedstock. *Journal of Biotechnology and Bioprocess Enginering*, 16: 1231-1239.
- Kaka. 2007. *Gatot Makanan Olahan Singkong Selain Tiwul*. <Http://Bahan-Pangan.Blogspot.Com/2007/Gatot-Makanan-Olahan-Singkong-Selain.Html> [12 April 2013].
- Kartasapoetra, A. G. 1994. *Teknologi Penanganan Pasca Panen*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Khoramnia, Ebrahimpour, Boon, K. B., and Lai, O. M. 2011. Production of a Solvent, Detergent, and Thermotolerant Lipase by a Newly Isolated *Acinetobacter* sp. in Submerged and Solid-State Fermentations. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Vol. 2011, article ID 702179.
- Kusnadi, Saefrudin dan Efrianti, A. 2008. *Keanekaragaman Jamur Selulolitik dan Amilolitik Pengurai Sampah Organik dari Berbagai Substrat*. Bandung: Universitas pendidikan Indonesia (<http://sinpi.updib.ac.id/sinpi/resources>)
- Lay, B.W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi 1. Cetakan 1. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.

- Mardigan, M. T. dan Martinko, J. M. 2006. *Brock Biology of Microorganisms* 11th ed. New Jersey : Pearson Education. Hal. 178-185.
- Meilgaard, S., Civille, V.G., and Carr, B.T. 1999. *Sensory Evaluation Techniques*. 3<sup>rd</sup> Edition. Boca Raton: CRC Press.
- Nurdjanah, S. 2009. *Karakteristik Pasta dari Pati Jagung Terfermentasi secara Spontan*. Seminar Hasil Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat. Lampung: Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Nurhayati. 2011. Peningkatan Sifat Prebiotik Tepung Pisang Dengan Indeks Glikemik Rendah Melalui Fermentasi Dan Siklus Pemanasan Bertekanan-Pendinginan. *Jurnal Ilmu Dasar*, 12(2): 114-225.
- Olympia, M., Fukuda, H., Ono, H., Kaneko, Y., and Takano, M. 1995. Characterization of starch-hydrolyzing lactic acid bacteria isolated from a fermented fish and rice food, "Burong Isda," and its amylolytic enzyme. *J Ferment Bioeng*, 80: 124–30.
- Pelczar and Reid. 1958. *Microbiology*. New York: McGraw-Hill Book Publishing.
- Prabawati, S., Richana, N., dan Suismono. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan dan Diversifikasi Pangan*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.
- Prasetyo, E. F. (2006)."Kajian Tentang Aktivitas Enzim Selulase *Trichoderma viride* Dengan Menggunakan Berbagai Macam Substrat Selulosa". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bandung: UPI Bandung.
- Reddy, G., Altaf, M., Naveena, B.J, Venkateshwar, M. and Kumar E. V. 2008. *Amylolytic bacterial lactic acid fermentation-A review*. *J Elsevier-Biotechnol Adv*, 26: 22–23.
- Riemann, P. R. and Cliver, D. O. 2006. *Foodborne Infections and Intoxications*. Third Edition. USA: Elsevier inc., California.
- Rusmarilin, H dan Purba, A. 2007. *Teknologi Bahan Pangan Nabati*. USU-Press, Medan.
- Sajilata, M. G., Rekha, S. S., and Puspha, R. K. 2006. Resistant starch a review. *J Comprehensive Rev in Food Sci and Food Safety*, 5: 1-17.
- Salminem, S., Wreight, A. V., dan Ouwehand, A. 2004. *Lactid Acid Bacteria*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Sikorsi, Z. E. 2002. *Chemical and Functional Properties of Food Components*. Edisi ke-2. Boca Raton: CRC Press.

- Soetanto, N.E. 2008. *Tepung Kasava dan Olahannya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Steenkraus. 1995. *Handbook of Indigenous Fermented Food. Second Edition*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Subagio. 2006. Ubi Kayu Substitusi Berbagai Tepung-Tepungan. *Food Review*, 1(3): 18-22.
- Suliantri dan Winiati. 1990. *Teknologi Fermentasi Umbi-Umbian dan Bijibijian*. Bogor : Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sudarmadji, S.B, Haryono dan Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Sun Co. 2000. *Sun Rheotex SD-700#*. Tokyo: Sun Sientifict Co. Japan.
- Susilowati dan Oetari, A. 2002. *Koleksi, Karakterisasi, dan Preservasi Mikroba Penyubur Tanah dan Perombak Bahan Organik*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. [Online]. Tersedia: [http://digilib.unila.ac.id/go.\[26 Juli 2014\]](http://digilib.unila.ac.id/go.[26 Juli 2014])
- Syarief. R., Ega dan Nurwitri, C. C. 2012. *Mikotoksin Bahan Pangan*. Bogor: IPB Press.
- Vishnu, C., Naveena, B. J., Altas, Md., Venkateshwar, M., and Reddy, G. 2006. Amylopullulanase: a novel enzyme of *L. amylophilus* GV6 in direct fermentation of starch to L(+) lactic acid. *Enzyme Microb Technol*, 38:545-50.
- Winarno, F.G. 1993. *Kimia Gizi, Teknologi dan Konsumen*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wronkowska, M., Smietana, M. S., Krupa, U., and Biedrzycka, E. 2006. In Vitro Fermentation of New Modified Starch Preparations-Changes of Microstructure and Bacterial End-Products. *J Enzyme Microbial Technol*, 40: 93–99.

## LAMPIRAN

### A. Produksi Gatot Singkong secara Fermentasi Spontan



(a)

(b)

(c)

(d)

Keterangan: (a) singkong segar, (b) hasil pengupasan dan pencucian singkong, (c) hasil pengeringan dan (d) hasil fermentasi gatot

### B. Pemurnian Kapang Indigenus Gatot Singkong

- Gatot singkong Hasil fermentasi spontan

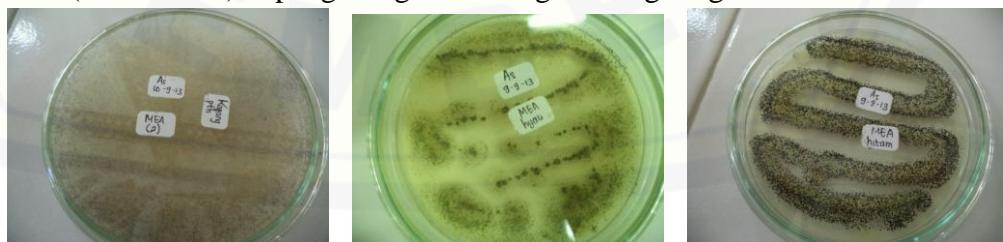


- Isolasi kapang indigenus dari gatot singkong



Keterangan: Kapang yang tumbuh hasil inokulasi dari gatot singkong. Kapang yang dominan tumbuh dengan warna sporangium dan miselium berbeda akan dimurnikan untuk memperoleh isolat murni.

- Isolat (kultur stok) kapang indigenus dari gatot singkong



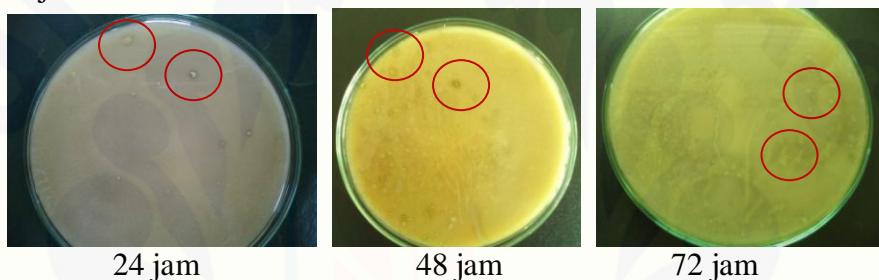


(b) (b) (c)

Gambar Isolat (kultur stok) kapang indigenus gatot pada media MEA miring (a) *Rhizopus oligosporus*, (b) *Trichoderma* sp. dan (c) *Aspergillus niger*.

### C. Pemurnian Bakteri Asam Laktat Indigenus Gatot Singkong

- Isolasi BAL indigenus dari perendaman gatot singkong selama 24, 48 dan 72 jam



24 jam

48 jam

72 jam

- Pemilihan dua isolat BAL berdasarkan zona bening terluas yang dihasilkan oleh BAL.

Luas zona bening dari Isolat BAL (24 jam) (cm <sup>2</sup> )	Luas zona bening dari Isolat BAL (48 jam) (cm <sup>2</sup> )	Luas zona bening dari Isolat BAL (72 jam) (cm <sup>2</sup> )
<b>A1 = 0.25</b>	<b>B1 = 0.06</b>	<b>C1 = 0.03</b>
<b>A2 = 0.35</b>	<b>B2 = 0.08</b>	<b>C2 = 4.48</b>
A3 = 0.1	B3 = 0.02	C3 = 1.29
A4 = 0.05	B4 = 0.01	

- Isolasi dengan goresan kuadran sehingga diperoleh isolat tunggal (kultur stok) BAL indigenus dari gatot singkong



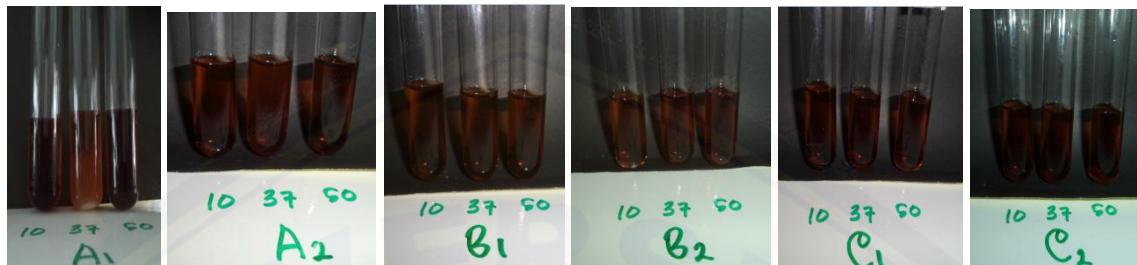
A1,A2,B1,B2,C1,C2

Keterangan: Isolat murni (kultur stok) Bakteri asam laktat)

## D. Uji Fisiologis Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

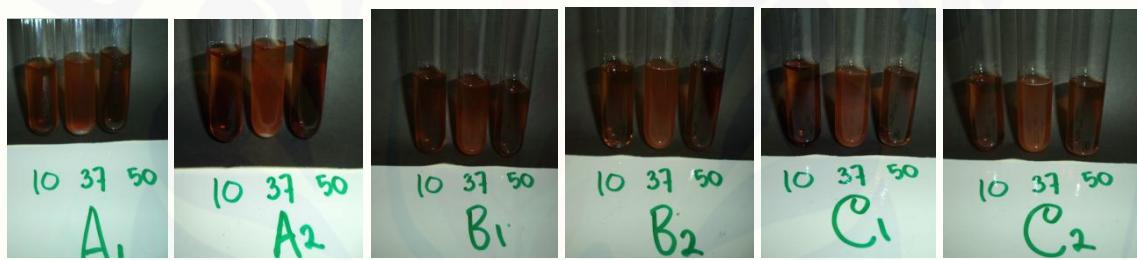
### D.1 Uji Suhu Pertumbuhan Isolat BAL

- Pengamatan pertumbuhan isolat BAL pada variasi suhu 10°C, 37°C dan 50°C selama waktu inkubasi 24 jam



Keterangan: Perubahan warna media menjadi keruh menunjukkan adanya pertumbuhan isolat BAL A1 pada suhu 37°C dan isolat yang lain belum menunjukkan perubahan warna

- Pengamatan pertumbuhan isolat BAL pada variasi suhu 10°C, 37°C dan 50°C selama waktu inkubasi 48 jam



Keterangan: Perubahan warna media menjadi keruh menunjukkan adanya pertumbuhan enam isolat BAL pada suhu 37°C dan tidak tumbuh pada suhu 10°C dan 50°C.

### D.2 Uji Katalase Isolat BAL



Isolat A1 dan A2



Isolat B1 dan B2

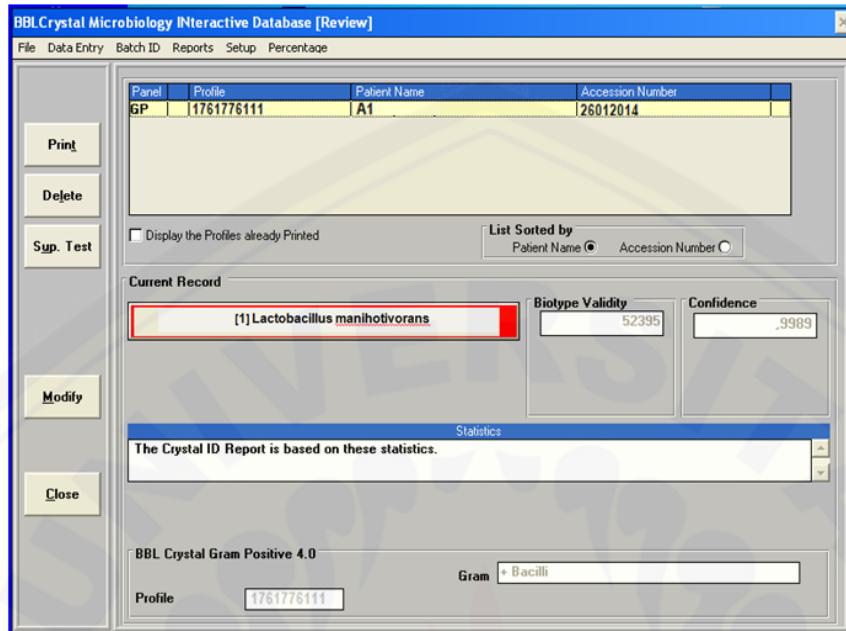


Isolat C1 dan C2

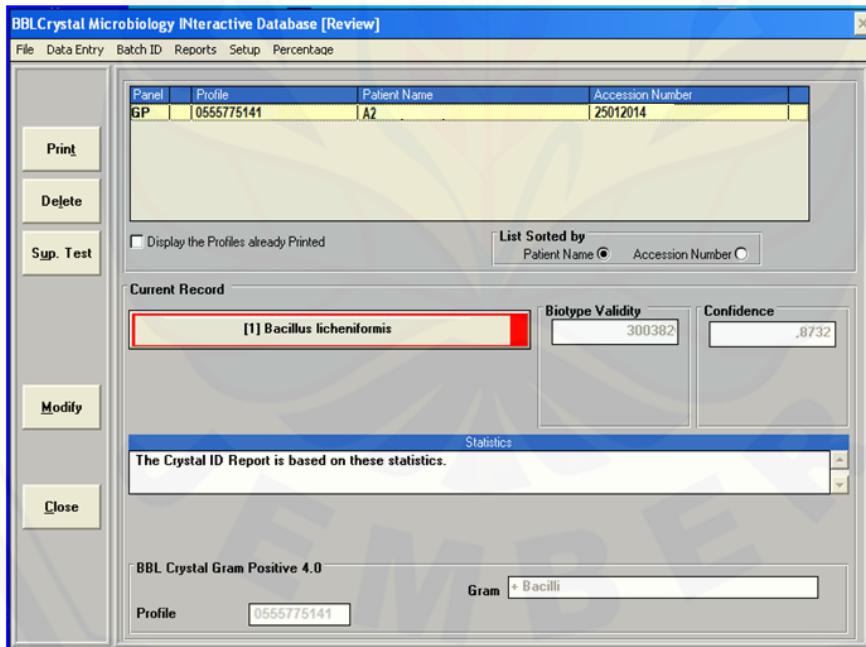
isolat tidak menghasilkan gelembung setelah ditetesi  $H_2O_2$  3% sehingga bersifat katalase negatif.

### D.3 Identifikasi spesies BAL menggunakan software kit BBL Crystal

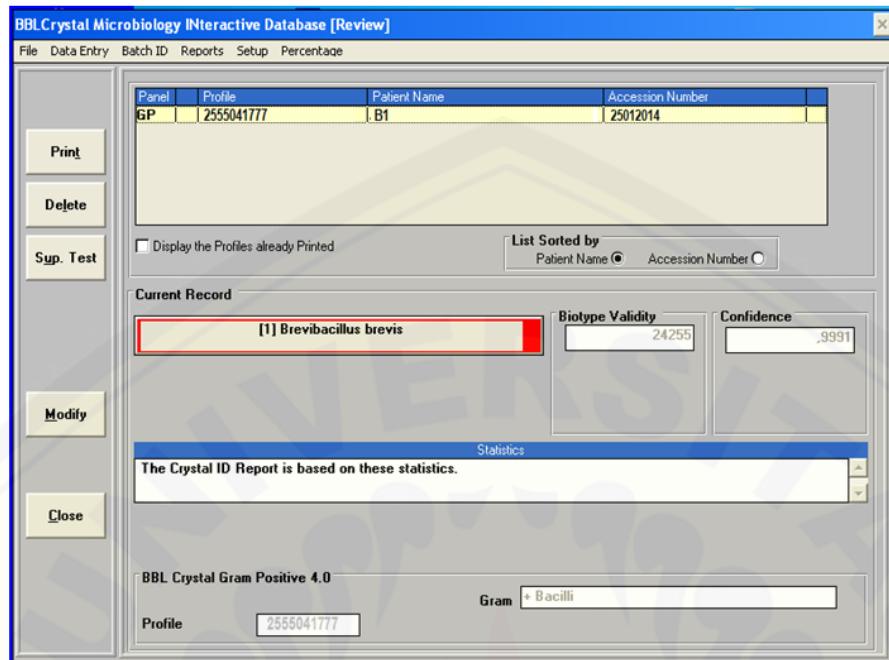
- Isolat A1= *Lactobacillus manihotivorans*



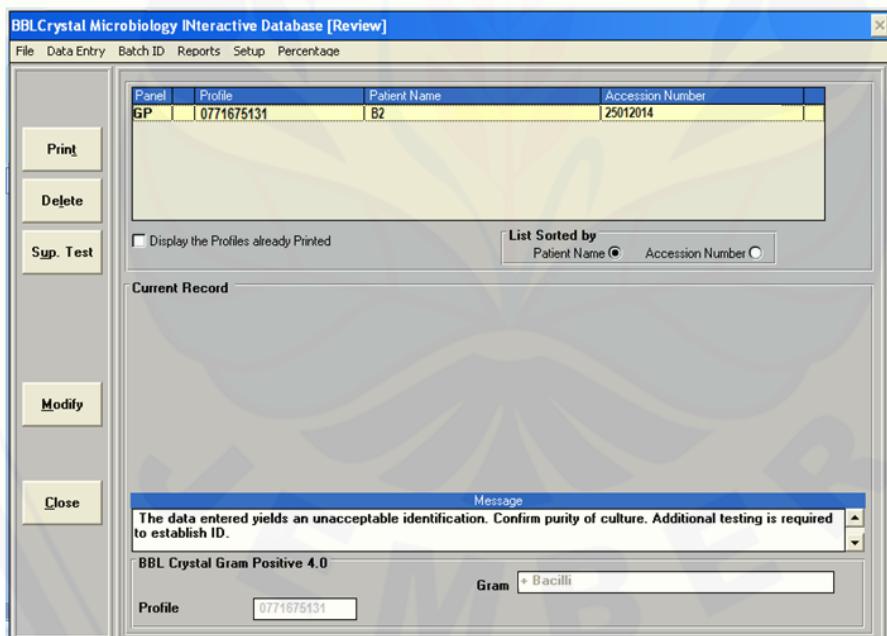
- Isolat A2= *Bacillus licheniformis*



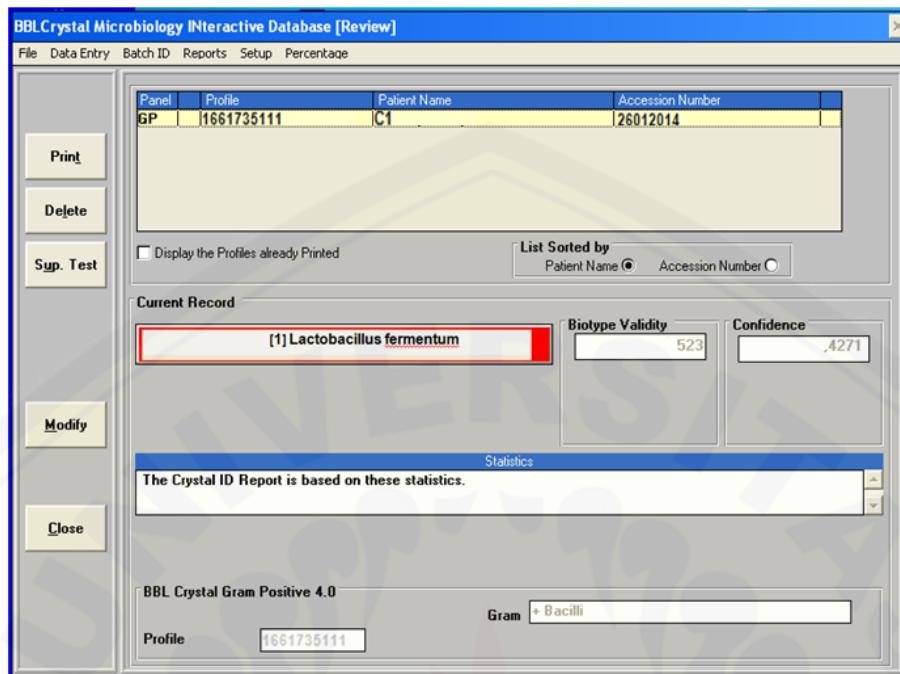
- Isolat BI= *Brevibacillus brevis*



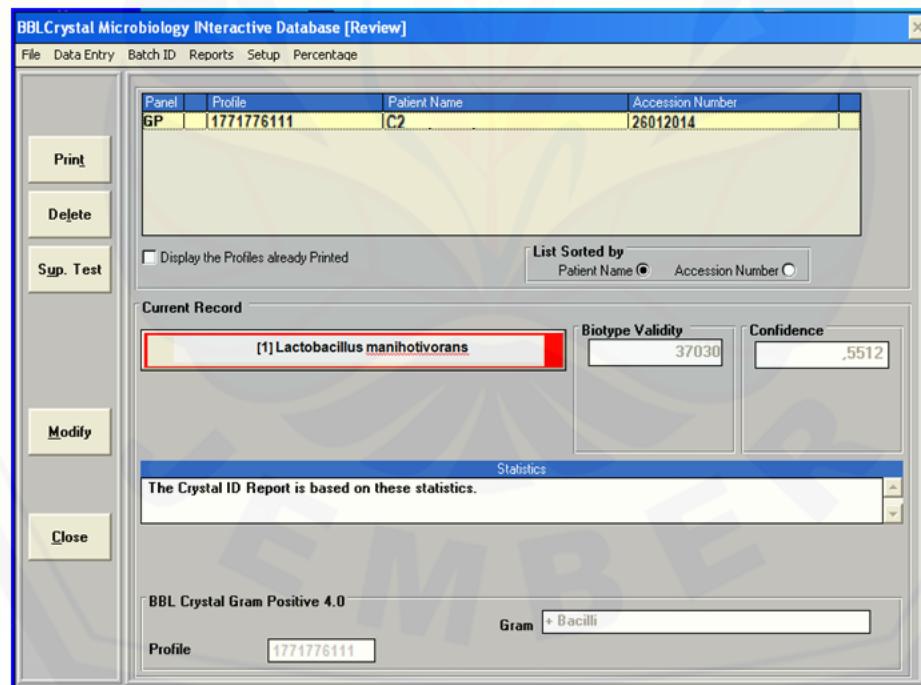
- Isolat B2= no identification



- Isolat C1= *Lactobacillus fermentum*



- Isolat C2= *Lactobacillus manihotivorans*



**D.4 Substrat yang dapat difermentasi sesuai uji kit BBL Crystal**

Substrat yang difermentasi	Isolat					
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
FVA= Valin	+	-	-	-	+	+
FPH= L-fenilalanin-AMC	+	+	+	+	+	+
<b>FGS= Glukosid</b>	+	+	+	+	-	+
FPY= L-pyroglutamic acid-AMC	+	+	+	+	+	+
FTR= L-tryptophan-AMC	+	-	+	+	+	+
FAR= Arginin	-	-	-	-	+	+
FGA= 4MU-N-acetyl- $\beta$ -D-glukosamine	-	+	+	+	-	+
FHO= Phospat	-	+	+	-	-	-
FIS= Isoleusin	+	+	+	+	+	+
TRE= Trehalose	+	+	-	+	+	+
<b>LAC= Laktosa</b>	+	+	-	+	+	+
<b>MAB=Metil-<math>\alpha</math> dan <math>\beta</math>-glukoside</b>	+	+	-	-	+	+
<b>SUC= Sucrose</b>	+	+	+	+	-	+
<b>MNT=Manitol</b>	+	+	-	+	+	+
<b>MTT= Maltotriosa</b>	+	+	-	+	+	+
<b>ARA= Arabinosa</b>	+	+	-	+	+	+
<b>FRU= Fruktosa</b>	+	+	+	+	+	+
BGL= Glukosa	-	-	+	-	-	-
PCE= Cellobiosid	-	-	+	-	-	-
PLN= Proline & Leucine-p-nitroanilid	+	+	+	-	+	+
PHO= Phosphat	-	+	+	-	-	-
PAM= Maltosid	-	-	+	+	-	-
<b>PGO= Galaktosida</b>	+		+	+	+	+
URE= Urea	-	-	+	-	-	-

ESC= Eskulin	+	-	+	-	-	-
ARG= Arginin	+	+	+	+	+	+
Identifikasi spesies menggunakan Software kit BBL Crystal	<i>Lactobacillus</i> <i>Manihotivorans</i>	<i>Bacillus</i> <i>Licheniformis</i>	<i>Brevibacillus</i> <i>brevis</i>	NO	<i>Lactobacillus</i> <i>fermentum</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>manihotivorans</i>
Tingkat akurasi	<b>0.9989</b>	0.8732	0.9991		0.4271	0.5512

## E. Hasil Pengukuran Sifat Fisik Gatot Singkong Kukus

### E.1 Warna/Whiteness

Sampel	Ulangan	Standar L	Nilai			Konversi			Whiteness	Rata2 Whiteness	Stedev
			L	a	B	L	a	b			
GKB	1	62.4	26.66	3.34	14.60	40.29	3.34	14.60	38.44	38.32	0.17
	2	62.4	26.5	3.4	14.60	40.05	3.4	14.60	38.20		
GK	1	62.4	26.76	3.66	15.24	40.44	3.66	15.24	38.41	37.68	1.04
	2	62.4	25.7	3.5	14.92	38.84	3.5	14.92	36.95		
GS	1	62.4	39.02	5.92	23.60	58.97	5.92	23.60	52.30	52.76	0.66
	2	62.4	40.52	6.3	25.40	61.23	6.3	25.40	53.23		
GB	1	62.4	41.13	5.94	19.04	62.16	5.94	19.04	57.22	57.91	0.97
	2	62.4	41.55	6.1	17.10	62.79	6.1	17.10	58.60		

## F. Hasil Pengukuran Sifat Kimiaiwi Gatot Singkong Kering

### F.1 Kadar Air

Sampel	Ulangan	Pengukuran			Kadar Air (%)	Rata-Rata Kadar Air (%)	Stedev
		A	B	C			
GKB	1	23.20	25.2	24.93	13.50	13.51	0.02
	2	22.63	24.63	24.36	13.52		
GK	1	9.88	11.88	11.63	12.50	12.54	0.06
	2	12.75	14.74	14.49	12.59		
GS	1	10.29	12.29	12.04	12.49	12.73	0.33
	2	21.91	23.92	23.66	12.96		
GB	1	9.76	11.74	11.48	13.13	13.15	0.03
	2	14.88	16.93	16.66	13.17		

Keterangan: A = Berat botol timbang

B = Berat sampel + botol timbang

C = Berat botol timbang + sampel setelah oven

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air (GKB) Ulangan 1} &= \frac{B - C}{B - A} \times 100\% \\
 &= \frac{25.2 - 24.93}{25.2 - 23.20} \times 100\% \\
 &= \frac{0.27}{2.00} \times 100\% \\
 &= 13.50\%
 \end{aligned}$$

## F.2 Kadar Abu

Sampel	Ulangan	Pengukuran						Rata-rata Kadar Abu (bk%)	Stedev
		A	B	C	Kadar Abu (bb%)	Kadar Air (%)	Padatan (%)		
GKB	1	14.23	16.23	14.25	0.55	13.5	86.50	0.63	0.65 0.02
	2	14.83	16.79	14.84	0.58	13.52	86.48	0.67	
GK	1	12.76	14.77	12.77	0.55	12.5	87.50	0.62	0.62 0.01
	2	8.75	10.71	8.76	0.54	12.59	87.41	0.61	
GS	1	8.15	11.04	8.17	0.48	12.49	87.51	0.54	0.59 0.06
	2	14.89	16.88	14.90	0.55	12.96	87.04	0.63	
GB	1	13.87	15.87	13.88	0.51	13.13	86.87	0.59	0.61 0.03
	2	14.97	16.96	14.98	0.55	13.17	86.83	0.64	

Keterangan: A = Berat cawan kosong

B = Berat sampel + cawan sebelum tanur

C = Berat botol timbang + sampel setelah tanur

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar abu GKB (\% bb) Ulangan 1} &= \frac{C - A}{B - A} \times 100\% \\
 &= \frac{14.25 - 14.23}{16.23 - 14.23} \times 100\% \\
 &= \frac{0.01}{2.00} \times 100\% \\
 &= 0.55\%
 \end{aligned}$$

Konversi kadar abu (\% bk) Ulangan 1

Kadar abu (\% bk), misal bahan 100 gram

Kadar air = 13.5% = 13.5% x 100 gram = 13.5 gram

Padatan = 100% - 13.5% = 86.50% → = 86.50% x 100 gram = 86.50 gram

Kadar abu (\% bb) = 0.55% x 100 gram = 0.55 gram

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar abu (\% bk)} &= \frac{0.55gr}{86.50gr} \times 100\% \\
 &= 0.63\%
 \end{aligned}$$

### F.3 Kadar Protein

Sampel	Ulangan	Kadar Air (%)	Padatan (%)	Kadar Protein (%bb)	Kadar Protein (%bk)	Rata-Rata Kadar Protein (%bk)	Stedev
GKB	1	13.5	86.50	8.35	9.65	9.59	0.09
	2	13.52	86.48	8.24	9.53		
GK	1	12.5	87.50	8.29	9.47	9.53	0.08
	2	12.49	87.51	8.38	9.59		
GS	1	12.99	87.01	8.5	9.71	9.77	0.09
	2	12.96	87.04	8.56	9.83		
GB	1	13.13	86.87	8.43	9.70	9.74	0.04
	2	13.17	86.83	8.48	9.77		

Konversi kadar protein (% bk) Ulangan 1

Kadar protein (% bk), misal bahan 100 gram

$$\text{Kadar air} = 13.5\% = 13.5\% \times 100 \text{ gram} = 13.5 \text{ gram}$$

$$\text{Padatan} = 100\% - 13.5\% = 86.50\% \rightarrow = 86.50\% \times 100 \text{ gram} = 86.50 \text{ gram}$$

$$\text{Kadar protein (% bb)} = 8.35\% \times 100 \text{ gram} = 8.35 \text{ gram}$$

$$\text{Kadar protein (% bk)} = \frac{8.35 \text{ gr}}{86.50 \text{ gr}} \times 100\%$$

$$= 9.65\%$$

### F.4 Kadar Lemak

Sampel	Ulangan	Pengukuran			Kadar Lemak (bb%)	Kadar Air (%)	Padatan (%)	Kadar Lemak (bk%)	Rata-rata	
		A	B	C					Kadar Lemak (bk%)	Stedev
GKB	1	2.41	2.004	2.34	3.24	13.5	86.50	3.75	3.32	0.61
	2	2.31	2.000	2.26	2.50	13.52	86.48	2.89		
GK	1	2.21	2.005	2.18	1.50	12.5	87.50	1.71	2.28	0.81
	2	2.20	2.003	2.15	2.50	12.59	87.41	2.86		
GS	1	2.50	2.001	2.44	3.00	12.49	87.51	3.43	3.15	0.39
	2	2.48	2.003	2.43	2.50	12.96	87.04	2.87		
GB	1	2.37	2.000	2.31	3.00	13.13	86.87	3.44	3.45	0.01
	2	2.41	2.001	2.35	3.00	13.17	86.83	3.45		

Keterangan: A = Berat sampel + kertas saring sebelum diektrak

B = Berat sampel

C = Berat sampel + kertas saring setelah diektrak

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar lemak GKB (\% bb) Ulangan 1} &= \frac{A - C}{B} \times 100\% \\
 &= \frac{2.41 - 2.34}{2.004} \times 100\% \\
 &= \frac{0.06}{2.004} \times 100\% \\
 &= 3.24\%
 \end{aligned}$$

Konversi kadar lemak (\% bk) Ulangan 1

Kadar lemak (\% bk), misal bahan 100 gram

Kadar air = 13.5% = 13.5% x 100 gram = 13.5 gram

Padatan = 100% - 13.5% = 86.50% → = 86.50% x 100 gram = 86.50 gram

Kadar lemak (\% bb) = 3.24% x 100 gram = 3.24 gram

$$\text{Kadar lemak (\% bk)} = \frac{3.24gr}{86.50gr} \times 100\%$$

$$= 3.75\%$$

### F.5 Kadar Karbohidrat

Sampel	Ulangan	Kadar air (%)	Kadar abu (%bk)	Kadar Protein (%bk)	Kadar Lemak (%bk)	Kadar Karbohidrat (%bk)	Rata-Rata Kadar Karbohidrat (%bk)	Stedev
GKB	1	13.50	0.63	9.65	3.75	72.47	72.93	0.65
	2	13.52	0.67	9.53	2.89	73.39		
GK	1	12.50	0.62	9.47	1.71	75.70	75.03	0.95
	2	12.59	0.61	9.59	2.86	74.35		
GS	1	12.49	0.54	9.71	3.43	73.83	73.77	0.08
	2	12.96	0.63	9.83	2.87	73.71		
GB	1	13.13	0.59	9.7	3.44	73.14	73.06	0.12
	2	13.17	0.64	9.77	3.45	72.97		

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar karbohidrat (\% bk)} &= 100\% - (\text{kadar air} + \text{kadar abu} + \text{protein} + \text{kadar lemak}) \\
 &= 100\% - (13.50\% + 0.63\% + 9.65\% + 3.75\%) \\
 &= 72.47\%
 \end{aligned}$$

## G. Hasil Evaluasi Sensoris Gatot Singkong Kukus

### G.1 Gatot Terfermentasi Kapang dan BAL (GKB)

No.	Warna	Tekstur	Aroma	Rasa Asam	Rasa Hambar	Tingkat Kesukaan
1	4.06	5	1.02	1.09	4	2.34
2	3.28	3.52	4.38	0.47	5	4.84
3	3.44	1.72	3.52	0	5	1.41
4	3.44	1.25	2.73	4.84	5	4.53
5	3.91	1.95	3.59	2.73	5	2.66
6	4.53	4.30	3.59	0.47	5	3.75
7	4.69	3.59	3.91	0.31	5	2.66
8	4.30	4.06	4.06	0.55	5	3.91
9	5	1.56	1.02	1.09	5	1.88
10	5	3.75	0.86	0	5	1.41
11	4.30	2.52	4.22	0.78	5	1.17
12	5.00	4.84	4.77	3.59	5	2.73
13	4.84	3.13	4.69	0.31	5	4.38
14	4.38	4.06	3.13	1.56	5	1.88
15	4.38	0.94	0.63	1.80	5	2.66
16	5.00	1.09	2.58	1.33	5	0.94
17	3.59	1.41	3.44	2.34	5	3.13
18	4.22	0.31	0.63	0	5	4.22
19	3.28	3.59	1.88	4.06	5	3.91
20	4.22	2.66	1.72	1.09	5	4.22
21	5	4.06	1.09	3.59	5	2.19
22	3.59	1.09	2.66	1.25	5	3.91
23	3.91	4.38	3.91	1.41	5	4.77
24	4.38	3.59	3.75	0.00	5	4.38
25	5	4.45	3.75	0.47	5	3.59
26	3.28	4.30	3.13	0.47	5	1.25
27	4.30	4.22	4.22	0.70	5	3.59
28	4.69	4.84	4.38	0.63	5	1.41
29	4.22	3.52	2.81	1.72	5	3.67
30	4.53	4.38	2.81	0.31	5	0.94
<b>Rata-rata</b>	<b>4.26</b>	<b>3.14</b>	<b>2.96</b>	<b>1.30</b>	<b>4.97</b>	<b>2.94</b>

**G.2 Gatot Terfermentasi Kapang (GK)**

No.	Warna	Tekstur	Aroma	Rasa Asam	Rasa Hambar	Tingkat Kesukaan
1	5.00	2.66	0	0	3.5	1.25
2	4.38	4.38	0.70	0.63	3.1	1.56
3	2.50	3.91	3.44	0	5	4.06
4	4.53	0.39	4.53	4.53	5	4.22
5	4.22	1.09	3.91	1.72	5	4.06
6	4.22	4.30	3.36	1.09	5	1.09
7	4.53	3.59	3.44	2.50	5	0.94
8	4.30	4.14	1.25	3.13	5	1.88
9	5.00	1.41	1.25	1.33	5	0.94
10	3.75	2.34	5.00	0	5	0
11	4.06	2.58	3.91	0.94	5	1.72
12	4.53	4.22	3.67	2.97	5	4.53
13	3.44	0.16	4.53	0.00	5	2.11
14	3.44	3.28	3.91	2.81	5	1.80
15	5.00	0.47	4.22	2.97	5	0.78
16	5.00	3.75	3.91	0	5	1.09
17	4.69	0.63	4.53	0	5	4.38
18	4.38	4.38	4.53	0	5	1.25
19	5.00	0.94	0.23	4.53	5	0
20	3.13	4.53	3.59	1.56	5	2.97
21	4.38	4.69	2.19	2.81	5	2.03
22	2.97	1.88	3.83	2.50	5	1.56
23	5.00	0.94	3.13	1.09	5	4.22
24	3.52	4.30	4.06	0	5	2.97
25	3.52	4.22	4.38	2.11	5	1.56
26	4.38	4.30	2.81	2.66	5	1.33
27	4.53	4.30	3.75	1.25	5	0.94
28	4.22	3.75	4.06	1.88	5	1.56
29	4.38	3.75	4.14	2.50	5	2.11
30	3.67	4.53	3.75	0.22	5	1.09
<b>Rata-rata</b>		<b>4.19</b>	<b>2.99</b>	<b>3.33</b>	<b>1.59</b>	<b>4.89</b>
						<b>2.00</b>

**G.3 Gatot Terfermentasi Spontan/Kontrol**

No.	Warna	Tekstur	Aroma	Rasa Asam	Rasa Hambar	Tingkat Kesukaan
1	2.66	3.91	2.34	1.17	3.5	0.00
2	1.41	4.45	3.83	0.31	4.5	1.25
3	2.81	2.66	2.66	0	4.1	2.97
4	1.33	4.53	0.55	4.69	3	2.66
5	0.31	4.38	4.22	2.58	5	2.97
6	1.72	4.22	1.95	1.02	5	2.19
7	2.97	3.59	3.28	2.97	5	1.72
8	2.34	3.28	3.13	0.94	5	2.81
9	2.58	3.91	1.17	0.47	5	4.06
10	2.34	2.50	1.02	0	5	3.91
11	1.17	3.28	4.22	3.36	5	3.67
12	2.81	4.22	3.59	2.03	5	3.36
13	1.09	2.19	2.03	3.28	5	1.72
14	2.03	2.81	4.06	0.00	5	1.02
15	3.44	1.88	1.41	1.88	5	4.69
16	0	0	2.58	0.00	5	3.59
17	2.34	2.81	2.03	1.56	5	1.09
18	4.14	4.38	4.06	0	5	4.22
19	0.31	3.13	1.72	3.91	5	0.16
20	2.66	3.13	4.38	0	5	0.86
21	3.44	3.28	2.34	3.44	5	2.34
22	1.88	3.59	1.09	1.09	5	3.44
23	0.63	1.09	1.09	2.03	5	1.41
24	3.28	4.53	2.97	1.72	5	3.28
25	1.41	4.14	3.44	2.03	5	3.05
26	2.81	3.44	4.06	2.58	5	1.56
27	4.53	2.73	4.06	0.63	5	1.09
28	3.28	2.11	4.38	0.47	5	1.41
29	2.81	0.94	3.83	1.88	5	2.58
30	2.19	1.56	2.34	0.47	5	1.09
<b>Rata-rata</b>		<b>2.22</b>	<b>3.09</b>	<b>2.79</b>	<b>1.55</b>	<b>4.02</b>
						<b>2.34</b>

**G.4 Gatot Singkong Terfermentasi BAL (GB)**

No	Warna	Tekstur	Aroma	Rasa Asam	Rasa Hambar	Tingkat Kesukaan
1	1.17	3.67	2.50	0	5	0.00
2	1.41	4.30	3.83	0.31	5	2.50
3	2.34	3.91	3.05	2.81	5	3.91
4	2.44	3.52	3.75	1.72	5	3.44
5	3.67	3.52	3.28	0.63	5	1.72
6	2.58	4.53	3.83	0.94	5	1.09
7	2.81	3.75	3.28	2.50	5	1.56
8	1.88	3.59	2.97	1.64	5	2.73
9	2.97	3.91	1.17	0.70	5	4.06
10	0.78	0.94	2.66	0	5	5.00
11	1.25	2.27	1.09	1.88	5	3.44
12	3.13	4.30	3.59	2.97	5	4.38
13	1.56	2.66	4.61	1.56	5	2.03
14	2.50	3.91	4.69	1.09	5	3.28
15	2.19	3.75	2.81	1.72	5	5.00
16	1.25	2.81	2.50	1.25	5	3.75
17	0.94	3.44	1.41	1.25	5	1.56
18	3.44	3.91	3.67	1.09	5	2.50
19	1.56	4.06	0.23	2.73	5	4.69
20	2.50	1.56	2.34	0.00	5	2.19
21	2.34	3.44	1.72	2.97	5	2.58
22	1.09	4.06	1.72	0.47	5	2.81
23	0.47	2.34	0.39	0.63	5	2.58
24	2.34	1.25	1.72	1.88	5	1.88
25	0.78	3.28	2.03	2.89	5	4.06
26	1.88	4.53	3.75	2.50	5	2.81
27	3.52	4.30	3.91	0.94	5	2.03
28	2.97	4.38	4.53	0.63	5	1.41
29	1.25	2.97	2.34	2.81	5	3.36
30	2.03	4.30	3.13	0.47	5	1.88
<b>Rata-rata</b>	<b>2.03</b>	<b>3.44</b>	<b>2.75</b>	<b>1.43</b>	<b>5</b>	<b>2.81</b>

**H. Hasil Uji Protein di Laboratorium Analisis Terpadu, Politeknik Negeri  
Jember**



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
POLITEKNIK NEGERI JEMBER**  
Jalan Masrip Jember kotak pos 164. 68101 Telp. (0331) 333532-34; Faks. (0331) 333531  
e-mail: [politeknik@polije.ac.id](mailto:politeknik@polije.ac.id); website : <http://www.polije.ac.id>

**LAPORAN HASIL ANALISA**

Tanggal terima : Jum'at, 25 April 2014  
 Tanggal selesai : Kamis, 8 Mei 2014  
 Dikirim oleh : ASTRIANI  
 Alamat : THP - FTP - Unit  
 Jenis sample : Gato Singkong  
 Jenis Analisa : Protein

**HASIL ANALISA**

N O	Jenis Analisa	Protein (%)		
		UL 1	UL 2	Rata2
1	GKS <sub>1</sub>	8,35	8,23	8,29
2	GKS <sub>2</sub>	8,21	8,56	8,38
3	GSS <sub>1</sub>	8,48	8,52	8,50
4	GSS <sub>2</sub>	8,52	8,61	8,56
5	GSB <sub>1</sub>	8,51	8,36	8,43
6	GSB <sub>2</sub>	8,44	8,53	8,48
7	GKB <sub>1</sub>	8,44	8,27	8,35
8	GKB <sub>2</sub>	8,23	8,25	8,24

Ket. Hasil analisa tersebut di atas sesuai dengan sample yang kami terima.

Mengerjakan  
Karya Lab. Analisis Pangan



NIP. 19681010 198703 1 003

Jember, 8 Mei 2014  
Analis

M. Djabir S, SE  
NIP. 19670512 199203 1 003

# I. Kuisioner Uji Karakteristik Sensoris Gatot Singkong Kukus

## FORM UJI DESKRIPTIF GATOT SINGKONG

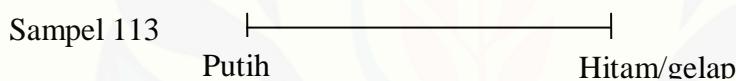
Nama :  
Usia :  
Jenis Kelamin :

## Pertanyaan pendahuluan

1. Pernahkah Anda menjadi panelis?  
Jawab:.....
  2. Dari daerah manakah anda berasal?  
Jawab:.....
  3. Apakah anda mengenal dan mengkonsumsi gatot yang diproduksi oleh masyarakat umum?  
Jawab:.....

Dihadapan saudara tersaji empat sampel gatot singkong kukus (siap konsumsi). Saudara diminta menilai gatot singkong kukus tersebut dengan memberi tanda pada skala yang tersedia. Parameter uji sensoris gatot singkong kukus meliputi warna, tekstur, aroma, rasa dan tingkat kesukaan.

## 1. Warna

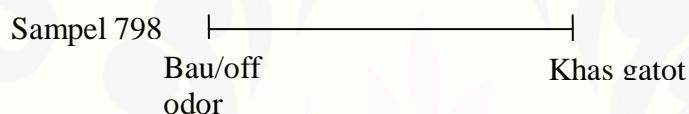


## 2 Tekstur

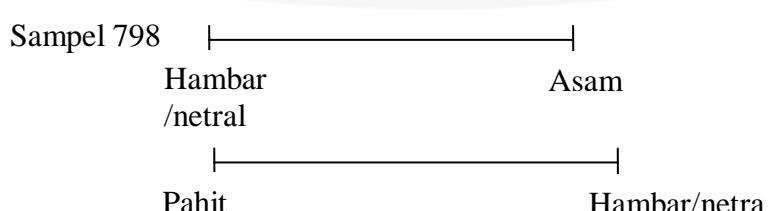
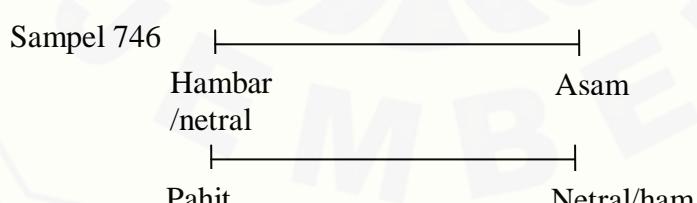




### 3. Aroma



4. Rasa





### 5. Tingkat Kesukaan

