



**ANALISIS KADAR PROTEIN TERLARUT HASIL FERMENTASI DAUN  
KEDELAI EDAMAME (*Glycine max* (L.) Merr) OLEH *Aspergillus niger* L.  
DENGAN PENAMBAHAN TEPUNG KEDELAI**

SKRIPSI

Asal :	Mediah	Klass
	Pembelian	
Waktu :	09 MAY 2007	665.15
Penyusun :		LES
Penyunting :		a
Penyunting :		

Oleh :

**Kurnia Shofie Lestari**  
NIM 021810401037

**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
2007

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Yang kupegang teguh Ad-dienul Islam;
2. Yang sangat kuhormati dan sangat kucintai Ibunda Misyani dan Ayahanda Misnan Udin yang telah merawat, memelihara, membesarkan dan mendidikku dengan segenap kesabaran dan kasih sayang serta senantiasa mengiringi langkahku dengan segala jerih payah serta tetesan keringat, air mata dan do'a yang tiada henti dalam mendukung langkahku, melapangkan jalan menuju kesuksesan dan cita-citaku;
3. Semua guruku yang telah memberikan ilmu dan membimbingku dengan penuh kasih sayang dan kesabaran;
4. Almamater Fakultas MIPA Universitas Jember.

**MOTTO**

”Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah urusan yang lain dengan sungguh-sungguh. Dan hanya kepada Allah-lah hendaknya kamu berharap”  
(QS. *Al-insyiraah*: 5-8)<sup>\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 1989. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: CV. Toha Putra.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Kurnia Shofie Lestari

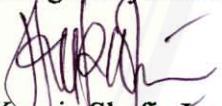
NIM : 021810401037

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: *Analisis Kadar Protein Terlarut Hasil Fermentasi Daun Kedelai Edamame (Glycine max (L.) Merr) Oleh Aspergillus niger L. dengan Penambahan Tepung Kedelai* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, April 2007

Yang menyatakan,

  
Kurnia Shofie Lestari  
NIM. 021810401037

**SKRIPSI**

**Analisis Kadar Protein Terlarut Hasil Fermentasi Daun Kedelai Edamame  
(*Glycine max* (L.) Merr) Oleh *Aspergillus niger* L. dengan  
Penambahan Tepung Kedelai**

Oleh

Kurnia Shofie Lestari  
NIM 021810401037

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Esti Utarti, SP, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota: Drs. Rudju Winarsa., M. Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul *Analisis Kadar Protein Terlarut Hasil Fermentasi Daun Kedelai Edamame (Glycine max (L.) Merr) Oleh Aspergillus niger L. dengan Penambahan Tepung Kedelai* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada :

Hari : SELASA

Tanggal : 08 MAY 2007

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

Dosen Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama



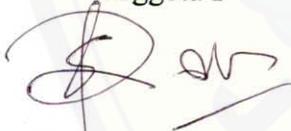
(Esti Utarti, S.P, M.Si)  
NIP. 132 243 344

Dosen Pembimbing Anggota



(Drs. Rudju Winarsa, M. Kes)  
NIP. 131 832 321

Anggota I



(Sattya Arimurti, SP, M.Si)  
NIP. 132 240 149

Anggota II



(Drs. Siswanto, M.Si)  
NIP. 132 046 350

Mengesahkan  
Dekan FMIPA UNEJ



(Ir. Sumadi, M.S)  
NIP. 130 368 784

## ABSTRAK

**Analisis Kadar Protein Terlarut Hasil Fermentasi Daun Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merr) oleh *Aspergillus niger* L. dengan Penambahan Tepung Kedelai**, Kurnia Shofie Lestari, 021810401037, Skripsi, April 2007, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Fermentasi daun kedelai edamame dengan penambahan tepung kedelai dilakukan selama 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari dengan menggunakan inokulum dari PDA miring yang berumur 4 hari. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan protein terlarut pada daun kedelai edamame setelah difermentasi dengan *A. niger* dan penambahan tepung. Kadar protein terlarut ini dianalisis dengan metode Bradford. Semakin lama proses fermentasi berlangsung, maka kandungan protein terlarut daun kedelai edamame mengalami peningkatan dengan fase optimal pada hari ke-8. Namun, pada hari ke-10 protein terlarutnya mengalami penurunan. Kadar protein terlarut yang terbentuk pada proses fermentasi selama 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari tersebut mempunyai nilai rata-rata berturut-turut sebesar: 3, 5.93, 9.58, 15, 21.65, 20.55 mg/g pada perlakuan sedangkan pada kontrol adalah 1.71, 1.77, 3.92, 6.52, 12.08, 11.60 mg/g. Peningkatan kadar protein terlarut ini diduga karena adanya penambahan tepung kedelai pada proses fermentasi yang dapat menyebabkan peningkatan aktivitas *A. niger* dalam mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dan adanya penurunan pada hari ke-10 tersebut diduga karena adanya proses fermentasi berlebihan (*over fermented*).

**Kata Kunci:** daun kedelai edamame, *Aspergillus niger*, protein terlarut, tepung kedelai

## RINGKASAN

**Analisis Kadar Protein Terlarut Hasil Fermentasi Daun Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merr) oleh *Aspergillus niger* L. dengan Penambahan Tepung Kedelai;** Kurnia Shofie Lestari, 021810401037; 2007; 20 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Daun kedelai edamame adalah salah satu alternatif yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan ternak. Salah satu cara untuk mengolahnya adalah memanfaatkan proses fermentasi dengan menggunakan *Aspergillus niger*. Penambahan tepung kedelai diduga dapat memberikan pengaruh yang lebih baik pada proses fermentasi, dan diharapkan dapat meningkatkan protein, peningkatan daya cerna dan peningkatan konsumsi pakan hingga diperoleh keseimbangan yang lebih baik antara asam amino dan energi di dalam zat-zat makanan yang terserap. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan protein terlarut pada daun edamame setelah difermentasi oleh *A. niger* dengan penambahan tepung kedelai pada konsentrasi tertentu. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi indikator dalam pengembangan dan peningkatan nilai nutrisi pakan ternak sehingga dapat memberikan zat-zat nutrisi yang berimbang untuk mendukung produktivitas pakan yang optimal.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi jurusan Biologi, FMIPA UNEJ pada bulan Juli sampai Desember 2006. Tahap-tahap penelitian meliputi pembuatan inokulum, penghitungan kepadatan spora, pembuatan starter dan pembuatan fermentasi utama. Kadar protein terlarut dianalisis dengan metode Bradford. Berdasarkan perhitungan kepadatan spora *A. niger* pada media PDA, ternyata jumlah spora *A. niger* terbanyak dihasilkan pada hari keempat yaitu sebesar  $6.85 \times 10^8$  sel/ml sedangkan pada hari kelima jumlah spora cenderung stabil yaitu sebesar  $6.49 \times 10^8$  sel/ml, sehingga jumlah kepadatan spora pada hari keempat inilah yang digunakan sebagai sumber inokulum media starter. Jumlah spora *A. niger*

terbanyak pada media starter dihasilkan pada hari ke-5 yaitu sebesar  $1.68 \times 10^8$  sel/ml sedangkan jumlah spora *A.niger* cenderung stabil pada hari ke-6 sebesar  $1.63 \times 10^8$  sel/ml.

Kadar protein terlarut yang dihasilkan pada proses fermentasi daun kedelai edamame selama 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari tersebut mempunyai nilai rata-rata berturut-turut sebesar 3, 5.93, 9.58, 15, 21.65 dan 20.55 mg/g pada perlakuan sedangkan pada kontrol adalah 1.71, 1.77, 3.92, 6.52, 12.08 dan 11.60 mg/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kandungan protein terlarut dihasilkan pada lama fermentasi hari ke-8 dengan jumlah 21.65 mg/g (pada perlakuan) sedangkan pada kontrol adalah 12.08 mg/g. Hal ini disebabkan *A. niger* memiliki intensitas pertumbuhan yang paling tinggi pada fermentasi 8 hari dan diduga adanya proses hidrolisis protein oleh aktivitas protease menjadi senyawa sederhana seperti asam amino. Namun, pada hari ke-10 protein terlarutnya mengalami penurunan dengan jumlah 20.55 mg/g pada perlakuan sedangkan pada kontrol sebesar 11.60 mg/g. Adanya penurunan kadar protein terlarut pada lama fermentasi hari ke-10 baik pada perlakuan maupun pada kontrol, diduga karena proses fermentasi berlebihan (*over fermented*).

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat serta hidayah-Nya, sehingga terselesaikannya skripsi yang berjudul “**Analisis Kadar Protein Terlarut Hasil Fermentasi Daun Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merr) oleh *Aspergillus niger* L. dengan Penambahan Tepung Kedelai**”.

Skripsi ini diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Pada kesempatan ini penulis sampaikan terima kasih kepada:

1. Esti Utarti, S.P., M. Si, selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak memberikan bimbingan, inspirasi, pengarahan, saran dan nasehat yang sangat berharga hingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
2. Drs. Siswanto, M.Si dan Sattya Arimurti, S.P., M.Si selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang sangat membantu dalam penyelesaian dan perbaikan skripsi ini.
3. Semua teknisi di MIPA Biologi terutama kepada Ibu Endang selaku teknisi di Laboratorium Mikrobiologi dan Mbak Suudah Hasanah S.Si yang telah bersedia membantu dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Jurusan Biologi melalui PHK A2 yang telah membiayai penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran sangat penulis harapkan untuk kesempurnaan karya tulis ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak dan dapat memberikan kontribusi terhadap kemajuan ilmu pengetahuan khususnya di bidang Mikrobiologi Industri.

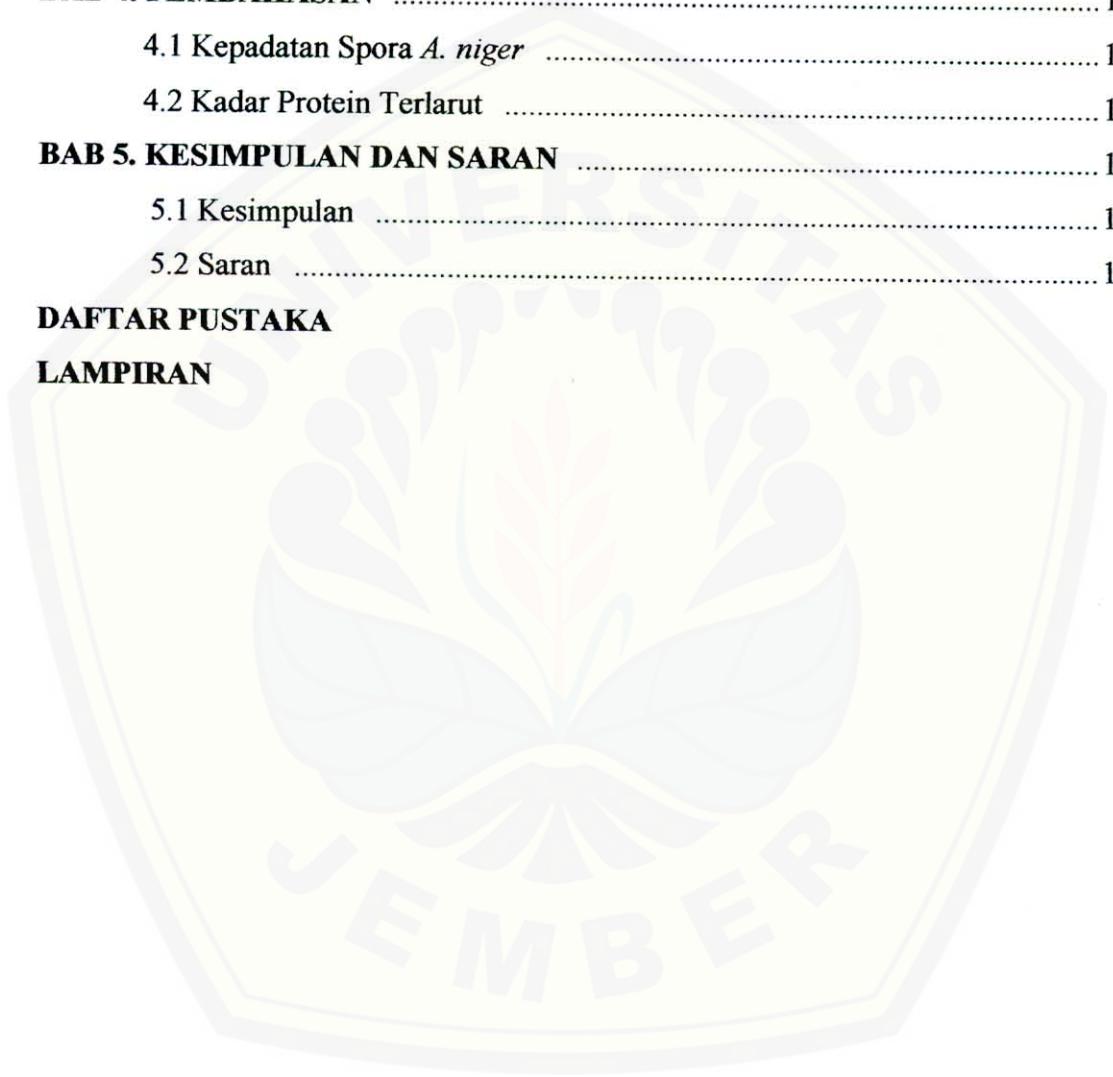
Jember, April 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Kedelai Edamame ( <i>Glycine max</i> (L.) Merr) .....	4
2.2 Fermentasi .....	5
2.3 <i>Aspergillus niger</i> L .....	6
2.4 Tepung Kedelai .....	7
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	9
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	9
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	9
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	10
3.3.1 Pembuatan Inokulum	
a. Peremajaan Isolat .....	10
b. Penghitungan Kepadatan Spora .....	10
3.3.2 Pembuatan Tepung Kedelai .....	10
3.3.3 Pembuatan Starter dan Fermentasi Utama	
a. Pembuatan Media .....	10
b. Perhitungan Spora Pada Starter .....	11
c. Fermentasi Daun Kedelai Edamame (Fermentasi Utama) .....	11

3.3.4 Analisis Protein Daun Kedelai Edamame	
a. Preparasi Sampel .....	12
b. Pengukuran Kadar Protein Terlarut (Metode Bradford) .....	12
c. Pembuatan Kurva Standar Protein .....	12
<b>BAB 4. PEMBAHASAN</b> .....	13
4.1 Kepadatan Spora <i>A. niger</i> .....	13
4.2 Kadar Protein Terlarut .....	14
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	18
5.1 Kesimpulan .....	18
5.2 Saran .....	18
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kandungan Nutrisi Pada Kedelai .....	5
2.4 Perbandingan Nilai Gizi Tepung Kedelai, Protein Konsentrat dan Isolat .....	8
4.2 Hasil Analisis Kadar Protein Terlarut Pada Daun Kedelai Edamame .....	14



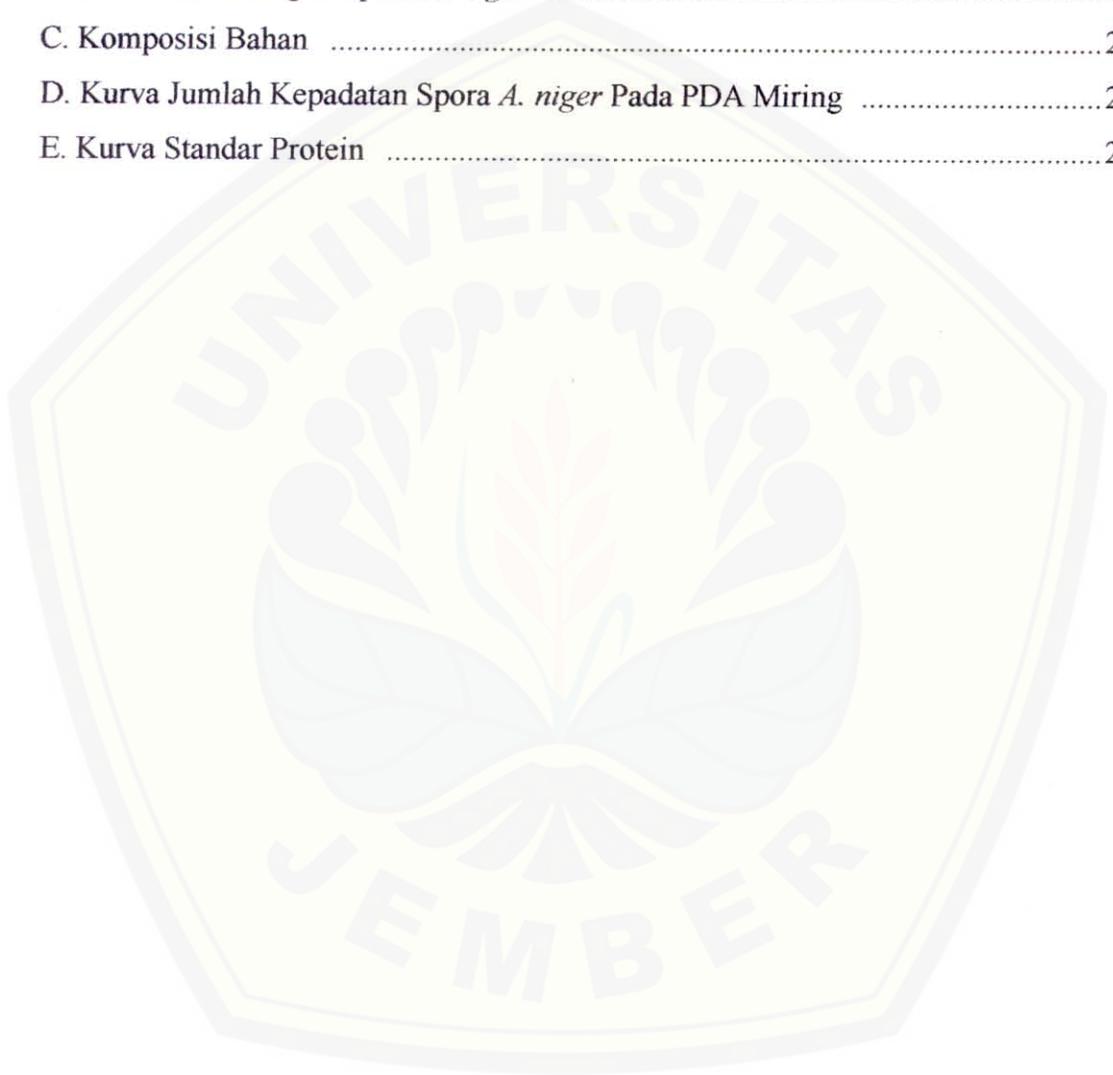
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
4.1 Jumlah Kepadatan Spora <i>A. niger</i> pada Substrat Daun Edamame .....	13
4.2 Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein Terlarut Daun Kedelai Edamame ...	17



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Hasil Perhitungan Spora .....	22
B. Rumus Perhitungan Spora <i>A. niger</i> .....	22
C. Komposisi Bahan .....	23
D. Kurva Jumlah Kepadatan Spora <i>A. niger</i> Pada PDA Miring .....	23
E. Kurva Standar Protein .....	24





## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Kedelai merupakan komoditas pertanian yang sangat dibutuhkan di Indonesia baik sebagai bahan makanan manusia, pakan ternak, bahan baku industri maupun bahan penyegar. Kebutuhan kedelai di dalam negeri cenderung meningkat dalam setiap tahun, seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat akan kecukupan gizi dan berkembangnya berbagai industri pakan ternak. Bahkan dalam tatanan perdagangan pasar internasional kedelai mempunyai peran cukup penting dalam konsumsi pangan di berbagai dunia sebagai sumber protein nabati (Rukmana dan Yuniarsih, 1996).

Bagian dari kedelai edamame yang dimanfaatkan adalah bijinya. Produksi kedelai edamame yang tinggi selalu diikuti dengan hasil sampingan berupa biomassa daun atau jerami kedelai yang melimpah pula, sehingga perlu dilakukan pengolahan menjadi produk yang lebih bermanfaat (Yulianto, 2003). Jerami kedelai dapat dijadikan sebagai bahan pupuk organik dan bahan makanan tambahan (konsentrat) pada pakan ternak (AAK, 1989). Daun kedelai mengandung protein (20.4%) (Tillman, *et al.*, 1982). Bila ditinjau dari kandungan protein yang tinggi tersebut, daun kedelai menjadi potensial untuk diolah menjadi pakan ternak (Suprpto, 2001).

Pakan merupakan bagian yang penting dalam kehidupan ternak, karena dapat mempengaruhi pertumbuhan, kesehatan dan produksi ternak (Wahju, 1985). Menurut Parakkasi (1999), salah satu pakan yang harus dipenuhi untuk ternak ruminansia adalah hijauan. Di saat tertentu makanan hijauan akan sulit diperoleh. Sehingga menurut Iksan (2004), perlu dicari alternatif sumber makanan ternak selain makanan hijauan untuk ruminansia. Pemanfaatan limbah pertanian seperti daun kedelai edamame adalah salah satu alternatif yang dapat dijadikan sebagai sumber makanan

ternak. Irfan, *et al* (2002) mengemukakan bahwa salah satu cara untuk mengolahnya adalah memanfaatkan proses fermentasi dengan menggunakan *Aspergillus niger*.

*Aspergillus niger* merupakan jenis kapang yang mampu menghasilkan sejumlah enzim, salah satu diantaranya adalah protease yang stabil pada kisaran pH 2.5-5.5 (Olajuyigbe, *et. al.*, 2003), sehingga *A. niger* tersebut diharapkan dapat meningkatkan protein terlarut daun edamame.

Fermentasi daun kedelai edamame dengan *A. niger* selama 6 hari terjadi peningkatan kadar protein terlarut sebesar 0.23% (Yekti, 2005). Peningkatan kadar protein terlarut ini relatif kecil sehingga diduga penambahan tepung kedelai dapat memberikan pengaruh yang lebih baik pada fermentasi. Hal ini dikarenakan tepung kedelai memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan daun kedelai dan *A. niger* dapat memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam tepung kedelai tersebut secara langsung, sehingga diharapkan dapat meningkatkan kadar protein terlarut daun edamame, peningkatan daya cerna (Winarno, 1993) dan peningkatan konsumsi pakan hingga diperoleh keseimbangan yang lebih baik antara asam amino dan energi di dalam zat-zat makanan yang terserap (Wahju, 1985).

## 1.2 Rumusan Masalah

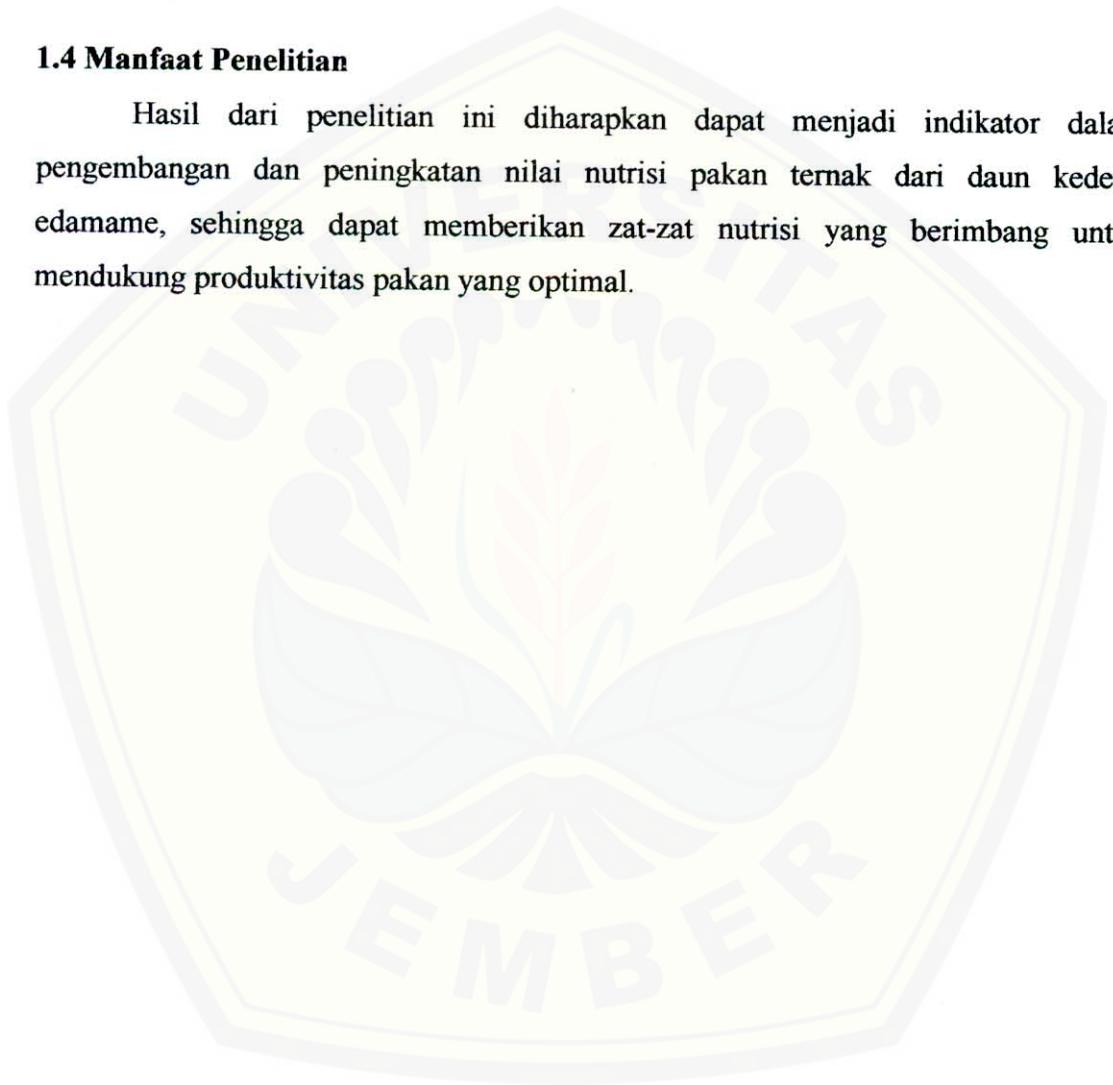
Fermentasi daun kedelai dengan menggunakan *A. niger* merupakan salah satu teknik pengolahan bahan makanan yang diperkirakan dapat meningkatkan nilai nutrisi daun edamame. Meningkatnya protein terlarut merupakan salah satu indikator dalam peningkatan kualitas nutrisi. Adanya penambahan tepung kedelai dalam satu konsentrasi, diharapkan dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan *A. niger*, sehingga fermentasi berjalan lebih baik. Penambahan tepung kedelai pada media fermentasi hanya dilakukan pada satu konsentrasi yaitu 5% sedangkan fermentasi dilakukan selama 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan protein terlarut pada daun kedelai edamame setelah difermentasi oleh *A. niger* dengan penambahan tepung kedelai pada konsentrasi tertentu.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi indikator dalam pengembangan dan peningkatan nilai nutrisi pakan ternak dari daun kedelai edamame, sehingga dapat memberikan zat-zat nutrisi yang berimbang untuk mendukung produktivitas pakan yang optimal.





## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merr)

Menurut Steenis (1975) kedudukan tanaman kedelai dalam sistematik tumbuhan dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta
- Kelas : Dicotyledonae
- Ordo : Polypetales
- Famili : Leguminosae (Papilionaceae)
- Genus : *Glycine*
- Species : *Glycine max*

Kedelai edamame merupakan tanaman sayuran-sayuran yang telah banyak dikembangkan dan termasuk famili Leguminosae. Rukmana dan Yuniarsih (1996) mengemukakan bahwa kedelai edamame tersebut dikenal dengan beberapa nama di antaranya adalah kedelai Jepang, kedelai manis, dan kedelai hitam (Koramame), sedangkan nama umum di dunia disebut "*Soybean vegetables*". Menurut Fachruddin (2000), pada umumnya edamame dipanen saat kulit polong masih hijau, tetapi polong sudah terisi penuh, sehingga produksi kedelai edamame yang tinggi tersebut diikuti dengan hasil sampingan berupa biomassa daun atau jerami yang masih berwarna hijau atau muda untuk dijadikan sebagai pakan ternak.

Pada saat menilai mutu makanan, yang sering diperhatikan adalah rasio kandungan kalori, semakin rendah semakin baik. Dibandingkan dengan produk kacang-kacangan lain, ternyata menurut Winarno (1993) rasio kandungan kalori kedelai yang paling rendah nilainya. Estuti dan Nurchasanah (2000) menyebutkan bahwa nilai protein daun kedelai jika difermentasi dan dimasak akan memiliki mutu yang lebih baik dari jenis kacang-kacangan lainnya.

Tilman, *et. al.*, (1982) menyatakan bila protein adalah senyawa organik kompleks yang mempunyai berat molekul tinggi. Seperti halnya karbohidrat dan lipida, protein mengandung unsur-unsur karbon, hidrogen dan oksigen, tetapi sebagian bahan tambahannya semua protein mengandung nitrogen. Kebanyakan protein mengandung sulfur, beberapa protein mengandung fosfor. Kedelai memiliki kandungan nutrisi seperti yang terlihat pada tabel 2.1 berikut ini:

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi Pada Kedelai

Bagian Tanaman	Air (%)	Protein (%)	Lemak (%)
Batang	80.59	14.5	2.2
Biji	14	42.7	20.1
Daun	76.4	20.4	3.3

(Sumber: Tilman, *et. al.*, 1982)

Protein daun kedelai tersebut dimasukkan ke dalam protein lengkap karena mengandung delapan asam amino esensial, (asam amino yang tidak dapat disintesis oleh organisme) seperti *tryptophan*, *phenilalanin*, *lysine*, *treonin*, *methionine*, *leusin*, *isoleusin* dan *valkin* secara seimbang (Parakkasi, 1995). Nilai gizi kedelai akan meningkat bila dicampur dengan suplemen dalam bentuk padat ([http://www.infonuklir.com/Tips/atomos\\_ummb.htm](http://www.infonuklir.com/Tips/atomos_ummb.htm), 2006).

Bila dilihat dari komposisi kacang-kacangan secara umum, maka sekitar 25% dari kalori (energi) yang terdapat dalam kacang-kacangan adalah protein. Kacang-kacangan biasanya kekurangan metionin, yaitu salah satu asam amino esensial yang diperlukan untuk membuat suatu protein lengkap. Oleh karena itu penambahan makanan lain yang mengandung jenis asam amino tersebut sangat perlu dilakukan (Winarno, 1993).

## 2.2 Fermentasi

Fermentasi merupakan proses pemecahan senyawa organik menjadi senyawa sederhana yang melibatkan mikrob (Suriawiria, 1985) atau definisi fermentasi ini diperluas menjadi oksidasi reduksi dengan menggunakan sumber energi dan sumber

karbon, nitrogen dan lain-lain untuk membentuk senyawa yang mempunyai nilai ekonomi lebih tinggi serta terakumulasi dalam media (Tejasari, 2005).

Menurut Purnomo dan Adiono (1987), fermentasi oleh mikroba yang dikehendaki memberi rasa, tekstur dan bentuk yang bagus (*bouquet*) untuk bahan pangan yang telah difermentasi. Muchtadi (1997) menjelaskan bahwa fermentasi pada bahan pakan ini bertujuan untuk pengawetan dan peningkatan nutrisi bahan pakan. Pakan yang difermentasi memiliki nilai nutrisi lebih tinggi dari bahan aslinya, disebabkan mikroba yang bersifat katabolik yang dapat memecah komponen-komponen kompleks menjadi lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna.

### 2.3 *Aspergillus niger* L.

Menurut Alexopoulos dan Mims (1979) klasifikasi *A. niger* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Eumycophyta
Kelas	: Ascomycetes
Ordo	: Aspergillales
Famili	: Aspergillaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus niger</i>

Adapun karakteristik morfologi *A. niger* adalah mempunyai kepala pembawa konidi yang besar, bulat, dan berwarna hitam coklat atau ungu coklat. Kapang ini mempunyai bagian yang khas yaitu hifanya bersekat, spora yang bersifat aseksual dan mempunyai sifat aerobik sehingga dalam pertumbuhannya memerlukan O<sub>2</sub> dalam jumlah yang cukup (Dwidjoseputro, 1978). *A. niger* termasuk mikroba mesofilik dengan pertumbuhan maksimum pada suhu 35 °C – 37 °C. Derajat keasaman untuk pertumbuhan mikroba ini adalah 2.5-5.5 (Olajuyigbe *et. al.*, 2003), tetapi pada umumnya pertumbuhan akan lebih baik pada kondisi asam atau pH yang rendah (Fardiaz, 1989).

*A. niger* merupakan kapang yang dapat tumbuh cepat dan menghasilkan beberapa enzim, salah satu diantaranya adalah protease yang memiliki potensi untuk merombak protein pada ikatan peptidanya menjadi senyawa yang lebih sederhana (Hartati, *et. al.*, 2003).

#### 2.4 Tepung Kedelai

Tepung dan bubuk kedelai sering dikenal sebagai *defatted soy flour* dan *grit*. Bahan tersebut biasanya mengandung 40-50% protein, bergantung pada kadar lemaknya. Berdasarkan kadar lemaknya, dikenal dua macam bentuk produk tepung dan bubuk kedelai, masing-masing tepung dan bubuk kedelai berlemak penuh dan berlemak rendah (Tejasari, 2005).

Seperti proses pengolahan lainnya, ekstraksi berpengaruh terhadap nilai gizi pangan baik kadar gizi maupun mutu zat gizi pangan olahannya. Seluruh proses pengolahan kedelai menjadi konsentrat dan isolat protein, serta tepung kedelai berpengaruh terhadap nilai gizi pada pakan ternak. Menurut Evawati (2006), Ekstraksi dapat meningkatkan kadar mineral total tepung kedelai, demikian juga dengan kadar mineral K, S, Cl, Zn dan Cu meningkat, sebaliknya kadar P, Mg, Na, Ca, Fe dan Mn menurun pada tepung bungkil. Nilai gizi pada tepung kedelai, protein konsentrat dan isolat disajikan pada tabel 2.4.

Tabel 2.4 Perbandingan Nilai Gizi Tepung Kedelai, Protein Konsentrat dan Isolat

Ukuran Nilai-Gizi	Tepung berlemak penuh	Tepung bebas lemak (bungkil)	Protein konsentrat	Protein isolat
Kadar air (%)	3.4	6.5	8.0	4.8
Kadar protein (Nx6.25)	41.0	53.0	65.3	92.0
NEP (PER)	2.15	2.3	2.3	1.1-1.2
Lemak kasar (%)	22.5	1.0	0.3	-
Kadar serat kasar (%)	1.7	3.0	2.9	0.25
Kadar abu (%)	5.1	6.0	4.7	4.0

(Sumber: Tejasari, 2005)

### BAB III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai Desember 2006 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Jember.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah lampu Bunsen, tabung reaksi, *Beaker glass*, labu *Erlenmeyer*, gelas ukur, jarum ose, spatula, pipet volume, pipet mikro, vorteks (*Thermolyne*-Tipe 37600), neraca analitik, inkubator, autoklaf, nampan plastik, *laminar air flow*, Mikroskop (Motic B1 series), Hemasitometer (Bright-line), *Hand Tally Counter* (Tamaco), pH meter (Jenway), alat sentrifuge, Aluminium foil, dan batu didih.

Bahan yang digunakan adalah biakan murni *A.niger* yang merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNEJ, daun kedelai edamame, biji kedelai *var. galunggung*, alkohol, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), akuades, Garam fisiologis (NaCl 0.85%) dan *Bovine Serum Albumin* (BSA).



### **3.3 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.3.1 Pembuatan Inokulum**

##### **a. Peremajaan isolat**

Peremajaan isolat *A. niger* dilakukan dengan menginokulasikan 1 ose biakan murni *A. niger* pada media PDA miring dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam. Langkah ini bertujuan untuk meremajakan isolat dan mengkondisikan kembali biakan sebelum digunakan untuk perlakuan.

##### **b. Penghitungan Kepadatan Spora**

*A. niger* diinokulasikan secara merata pada media PDA miring dan diinkubasi pada suhu 30°C. Penghitungan kepadatan spora dilakukan dengan menambahkan 5 ml akuades ke dalam inokulum kemudian dikerik. Hasilnya ditampung dalam labu Erlenmeyer steril dan dibuat seri pengenceran 10<sup>-1</sup>. Kepadatan spora diukur menggunakan Hemasitometer sampai tercapai kepadatan spora 10<sup>8</sup> dengan berdasarkan cara Hadioetomo (1993) yang dilakukan setiap hari berturut-turut sampai hari ketujuh (lampiran B).

#### **3.3.2 Pembuatan Tepung Kedelai**

Pembuatan tepung kedelai dilakukan dengan merendam 270 gram biji kedelai selama semalam yang bertujuan untuk memberikan kondisi asam pada kedelai edamame lalu ditiriskan dan disangrai serta dihaluskan.

#### **3.3.3 Pembuatan Starter dan Fermentasi Utama**

##### **a. Pembuatan Media**

Daun kedelai edamame yang sudah kering direndam dalam air selama dua malam yang bertujuan untuk memberikan kondisi asam sesuai dengan kondisi yang diinginkan untuk pertumbuhan *A. niger*. pH jerami diukur dengan keasaman berkisar 5.5 (Yekti, 2005). Setelah direndam, jerami kedelai ditiriskan dan ditambahkan tepung kedelai sebanyak 5% kemudian disterilisasi. Untuk perhitungan spora, daun

kedelai yang direndam sebanyak 63 gr, untuk starter sebanyak 360 gr sedangkan fermentasi utama sebanyak 4800 gr.

#### **b. Perhitungan Spora Pada Starter**

Biakan *A. niger* diinokulasikan pada PDA miring secara merata dan diinkubasi berdasarkan hari optimum dari hasil perhitungan kepadatan spora di media PDA miring pada suhu 30<sup>0</sup>C. Setelah itu, biakan dikerik dan disuspensi dengan NaCl 0.85% untuk digunakan sebagai inokulum. Sebanyak 5% inokulum diinokulasikan pada 63 gr media daun kedelai dengan penambahan 5 % tepung kedelai.

Penghitungan kepadatan spora pada starter dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 gr starter dimasukkan ke dalam 9 ml garam fisiologis dan dibuat seri pengenceran 10<sup>-1</sup>. Kepadatan spora diukur dengan menggunakan Hemasitometer menurut Hadioetomo (1993) yang dilakukan setiap hari sampai hari ke-7 dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengukuran kepadatan spora ini bertujuan untuk mengetahui jumlah spora stabil pada starter yang akan dipakai sebagai inokulum pada proses fermentasi utama.

#### **c. Fermentasi Daun Kedelai Edamame (Fermentasi Utama)**

Sebanyak 360 gr daun kedelai edamame dengan penambahan tepung kedelai 5% diinokulasi biakan *A. niger* dengan konsentrasi 5 % dan diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C dengan lama hari sesuai hari optimum dari hasil perhitungan spora pada media starter. Biakan ini digunakan sebagai sumber inokulum media fermentasi utama. Fermentasi utama dilakukan dengan menginokulasikan 5 % starter pada 4800 gr media fermentasi dengan ditambah 5% tepung kedelai lalu dibagi menjadi 24 bagian dan diinkubasi pada suhu ruang selama 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari. Kontrol hanya terdiri atas daun kedelai sebanyak 2400 gr dengan menginokulasikan 5% starter ke dalamnya dan dibagi menjadi 12 bagian, sehingga setiap nampan berisi 200 gr dan diinkubasi pada suhu ruang selama 0, 2, 4, 6, 8 dan 10 hari.

### **3.3.4 Analisis Protein Terlarut Daun Kedelai Edamame**

#### **a. Preparasi Sampel**

Analisis protein terlarut daun kedelai edamame dilakukan pada tiap-tiap perlakuan berdasarkan metode Bradford. Pada tiap-tiap perlakuan, sampel ditumbuk hingga halus dan sebanyak 1 gr dilarutkan dalam 9 ml akuades steril. Pengujian dilakukan terhadap supernatan tiap-tiap sampel yang didapatkan melalui sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit.

#### **b. Pengukuran Kadar Protein Terlarut (Metode Bradford)**

Sebanyak 0.5 sampel protein dari masing-masing perlakuan dimasukkan dalam tabung reaksi dan kemudian ditambahkan 5 ml reagen CBB, divortex dan didiamkan selama 2 menit. Pengukuran absorbansi sampel dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Blanko terbuat dari 0.5 ml akuades dengan ditambah 5 ml reagen CBB. Pengukuran kadar protein terlarut ini menggunakan standar BSA.

#### **c. Pembuatan Kurva Standar Protein**

Pembuatan kurva standar protein dilakukan dengan menggunakan larutan standar BSA. Konsentrasi larutan stok BSA 1 mg/ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga didapatkan konsentrasi 50, 100, 125, 150, 175  $\mu\text{g/ml}$ . Standar protein dibuat dengan cara mengambil masing-masing 0.5 ml dari tiap seri pengenceran BSA tersebut dan ditambahkan dengan 5 ml CBB kemudian divortex dan didiamkan selama 2 menit. Pengukuran absorbansi larutan standar dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Selanjutnya dibuat kurva hubungan antara konsentrasi BSA dan absorbansi.

## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa fermentasi daun kedelai edamame oleh *A. niger* dengan penambahan tepung kedelai, tertinggi pada hari ke-8 dengan meningkatkan kadar protein terlarut sebesar 21.65 mg/g.

### 5.2 Saran

Penambahan jumlah inokulum, substrat fermentasi dan tepung kedelai dalam berbagai konsentrasi dengan evaluasi secara periodik masih perlu dilakukan untuk mendapatkan pengaruh positif terhadap peningkatan nutrisi.



**DAFTAR PUSTAKA**

- AAK. 1989. *Kedelai*. Yogyakarta: Kanisius.
- Alexopoulos, C. J. Dan Mims, C.W. 1979. *Introductory Mycology, Third Edition*. United States of America.
- Dwidjoseputro, D. 1978. *Pengantar Mikologi*. Bandung: IKAPI.
- Estuti, W. dan Nurchasanah. 2000. *Tempe Kecapir Beras Kombinasi Sempurna Peningkatan Mutu Protein* (Online). <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/1004/07/cakrawala/lain02.htm>, diakses tanggal 8 April 2006.
- Evawati, D. 2006. *Pengaruh Penambahan Tepung Kedelai dan Tepung Kacang Hijau terhadap Kandungan Protein dan Serat Beras Jagung Instan: Penelitian Eksperimental Laboratoris* (Online). <http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=jiptunair-gdl-s2-2004-evawatidia1278&PHPSESSID=e99ecec43aeb91a73c0e368ce140cf5f>, diakses tanggal 6 April 2006.
- Fachruddin, L. 2000. *Budidaya Kacang-kacangan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan Dan Gizi. IPB
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Hartati, L.; Lies, M.Y, dan Zaenal, B. 2003. Karakterisasi Protease dan Isolat Bakteri Pendegradasi Tepung Bulu. *Agrosains* 16 (1).
- Iksan, M. 2004. *Teknik Fermentasi Hijauan Makanan Ternak. Mahasiswa Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Unpad* (online). <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/0604/10/cakrawala/lainnya05.htm>, diakses tanggal 8 April 2006.

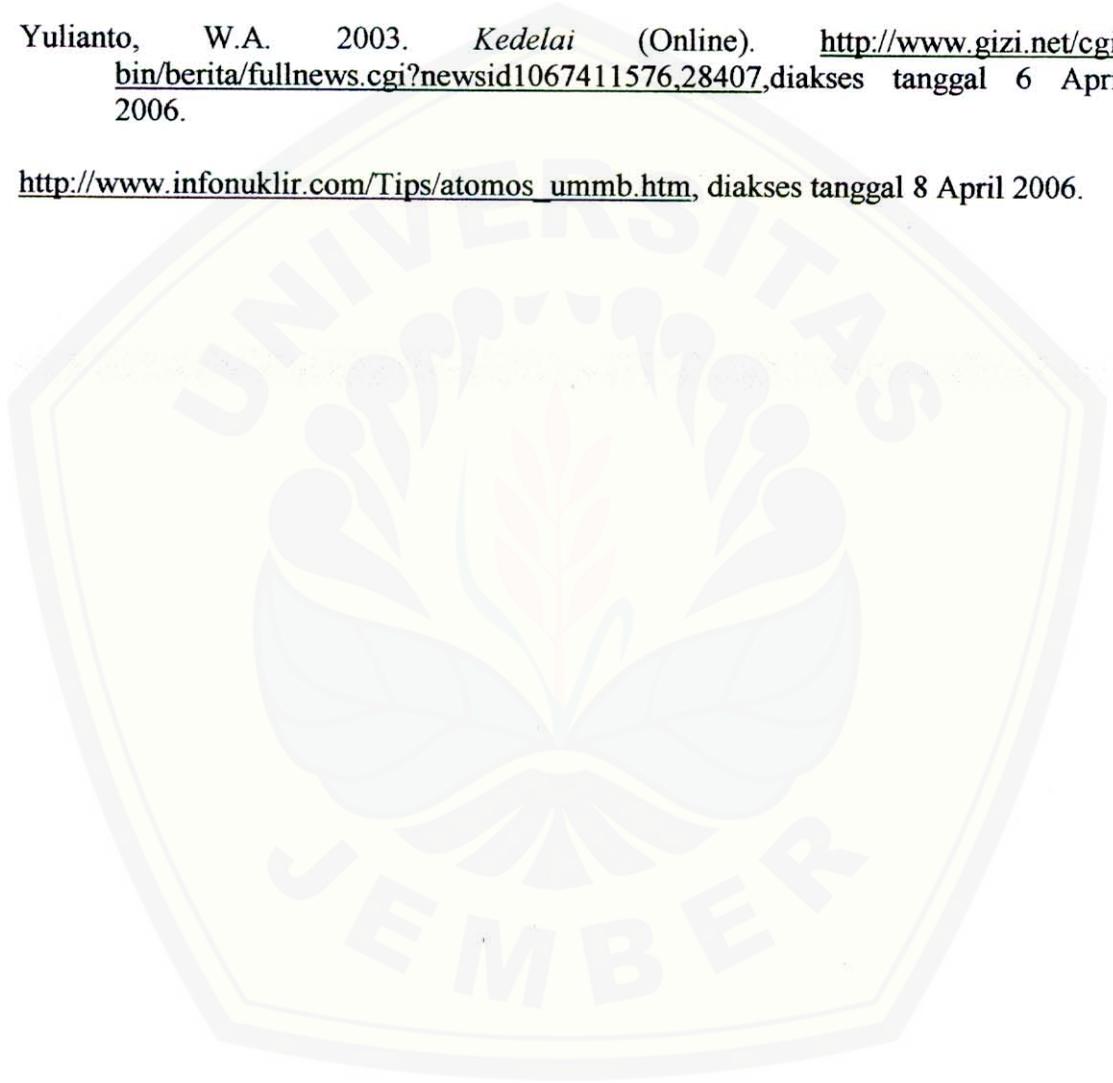
- Irfan, H.D.; Halim, M.; Sjoftan, O. dan Kompiang, I.P. 2002. *Penggunaan Campuran Dedak Padi Kasar dan Limbah Udang Terfermentasi dengan Aspergillus niger pada Pakan Puyuh Petelur*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Lidya, B dan Djenar, N.S. 2000. *Dasar Bioproses*. Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.
- Muchtadi, T. R. 1997. *Petunjuk Laboratorium (Teknologi Proses Pengolahan Pangan)*. Bogor: Depdikbud Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.
- Olajuyigbe F. M; Ajele, J.O dan Olawoye, T. L. 2003. *Some physicochemical properties of acid protease produced during growth of Aspergillus niger (NRRL1785)(online)*. <http://www.ajol.info/viewarticle.php?id=6884&jid=87&layout=abstract>, diakses 3 januari 2007.
- Parakkasi, A. 1995. *Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Limbah Pertanian dan Industri*. Yogyakarta: BPFE.
- Parakkasi, A. 1999. *Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak Ruminan*. Jakarta: UI Press.
- Purnomo, H. dan Adiono. 1987. *Ilmu Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Rukmana, R. dan Yuniarsih, Y. 1996. *Kedelai Budidaya dan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Steenis, Van; Bloembergen, S dan Eyma, P. J. 1975. *Flora Untuk Sekolah Di Indonesia*. Jakarta Pusat: Pradnya Paramita.
- Suprpto, Hs. 2001. *Bertanam Kedelai*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suriawiria, U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa.
- Susanto, T; Yunianta dan Hapsari, I. 2000. *Ekstrak Minyak Kelapa Dengan Fermentasi Jamur Tempe* (Online). [http://digilib.brawijaya.ac.id/virtual\\_library/mlg\\_warintek/Pdf%20Material/Majalah%20Bistek%20Vol%208%20no%2012%20Desember%202000/ekstraksi%20minyak%20kelapa%20dengan.pdf](http://digilib.brawijaya.ac.id/virtual_library/mlg_warintek/Pdf%20Material/Majalah%20Bistek%20Vol%208%20no%2012%20Desember%202000/ekstraksi%20minyak%20kelapa%20dengan.pdf), diakses tanggal 25 Pebruari 2007.
- Tejasari. 2005. *Nilai-Gizi Pangan*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Tilman, A.D; Soedomo, R; Soeharto, P, dan Soekanto, L. 1982. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wahju, J. 1985. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Yogyakarta: UGM Press.

Winarno, F.G. 1993. *Pangan (Gizi, Teknologi dan Konsumen)*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka.

Yekti, NA. 2005. Analisis Kandungan Protein Terlarut Daun Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merr) Hasil Fermentasi Oleh *Aspergillus niger*. Skripsi. Jember: FMIPA, Universitas Jember. (Tidak dipublikasikan).

Yulianto, W.A. 2003. *Kedelai* (Online). <http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid1067411576,28407>, diakses tanggal 6 April 2006.

[http://www.infonuklir.com/Tips/atomos\\_ummb.htm](http://www.infonuklir.com/Tips/atomos_ummb.htm), diakses tanggal 8 April 2006.



**LAMPIRAN**

**A. Hasil Perhitungan Spora**

**A.1 Rata-rata Perhitungan Spora *A. niger* pada Media PDA**

Inkubasi (Hari)	Jumlah Spora (sel/ml)
1	$2.082 \times 10^8$
2	$4.52 \times 10^8$
3	$5.535 \times 10^8$
4	$6.846 \times 10^8$
5	$6.485 \times 10^8$
6	$5.518 \times 10^8$
7	$3.198 \times 10^8$

**A.2 Rata-rata Perhitungan Spora *A. niger* pada Substrat Daun Edamame**

Inkubasi (Hari)	Jumlah Spora (sel/ml)
1	$5 \times 10^7$
2	$5.875 \times 10^7$
3	$6.39 \times 10^7$
4	$7.74 \times 10^7$
5	$1.68 \times 10^8$
6	$1.43 \times 10^8$
7	$5.51 \times 10^7$

**B. Rumus Perhitungan Spora *A. niger* (Hadioetomo, 1993)**

Misal: A/B

$$C = B \times 1/400$$

$$D = A \times 1/C$$

Keterangan:

A= jumlah petak yang berisi spora

B= jumlah spora dalam kotak

C= jumlah spora dalam  $1 \text{ mm}^2$

D= jumlah sel dalam  $1 \text{ mm}^2$

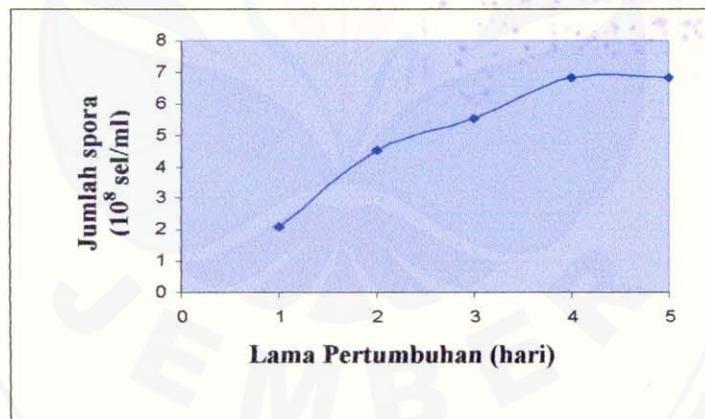
## C. Tabel Komposisi Bahan

## C.1 Komposisi Media PDA

Komposisi	Jumlah
Infusi agar	200 gr
Dextrosa	20 gr
Agar	15 gr
Air destilat	1000 ml

## C.2 Komposisi Reagen CBB

Bahan	Jumlah
<i>Coomassie Brilliant Blue G-250</i>	50 g
Etanol 95%	25 ml
<i>Phosporic acid</i>	85%
Akuades	Sampai volume akhir 500 ml

D. Kurva Jumlah Kepadatan Spora *A. niger* pada PDA Miring

## E. Kurva Standar Protein

