

LAPORAN PENELITIAN DASAR



**MEMPELAJARI MEKANISME PRODUKSI MINYAK  
SEL TUNGGAL DENGAN SISTEM FERMENTASI  
PADAT PADA MEDIA ONGGOK-AMPAS TAHU  
DENGAN MENGGUNAKAN KAPANG  
*Aspergillus terreus***

Oleh :

**Debby M. Sumanti, Ir. MS.  
Prof. Dr. Carmencita Tjahjadi, Ir. M.Sc.  
Marleen Herudiyanto, Ir. MS.  
Tati Sukarti, Ir. MS.**

**Dibiayai Proyek Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar  
Dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor 12/P2IPT/DPPM/PID/III/2003  
Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat  
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi  
Departemen Pendidikan Nasional**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS PADJADJARAN  
2003**

## LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Mempelajari Mekanisme Produksi Minyak Sel Tunggal Dengan Sistem Fermentasi Padat Pada Media Onggok-Ampas Tahu Dengan Menggunakan Kapang *Aspergillus terreus*.
2. Ketua Peneliti :
  - a. Nama Lengkap dan Gelar: Debby. M. Sumanti, Ir. MS.
  - b. Jenis Kelamin : Perempuan
  - c. Pangkat/Golongan/NIP : Pembina Tk.1 / IV b / 131 406 309
  - d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala Madya
  - e. Fakultas / Jurusan : Pertanian / Teknotan
  - f. Universitas : Padjadjaran
  - g. Pusat Penelitian : LEMLIT UNPAD
3. Jumlah Tim Peneliti : 4 orang
4. Lokasi Penelitian : Laboratorium PS Teknologi Pangan
5. Kerjasama dengan Instansi Lain : -
  - a. Nama Instansi : -
  - b. Alamat : -
6. Masa Penelitian : April – Oktober 2003
7. Biaya yang Diperlukan : Rp. 14.750.500,-  
(Empat belas juta tujuh ratus lima puluh ribu lima ratus rupiah)

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Pertanian Unpad

Bandung, 22 Oktober 2003  
Ketua Peneliti,

Prof. Dr. Sadeli Natasasmita, Ir.  
NIP. 130 367 244

Debby M. Sumanti, Ir. MS.  
NIP. 131 406 309

Menyetujui;  
Ketua Lembaga Penelitian  
Universitas Padjadjaran,

Prof. Dr. Johan S. Masjhur, dr., Sp.PD-KE., Sp.KN.  
NIP. 130 256 894

## RINGKASAN

Lemak/minyak merupakan nutrisi yang penting untuk menjaga kesehatan tubuh manusia. Mengingat kebutuhan lemak/minyak yang terus meningkat dari tahun ke tahun sejalan dengan makin bertambahnya jumlah penduduk, maka perlu dicari suatu sumber lemak/minyak alternative yang mengandung senyawa-senyawa yang mendukung kesehatan yaitu senyawa asam lemak tidak jenuh *jamak* (*Polyunsaturated Fatty Acid/PUFA*).

Alternatif yang mempunyai prospek cerah untuk dikembangkan adalah penggunaan mikroorganisme untuk produksi minyak sel tunggal (MST), dengan alasan tidak memerlukan lahan yang luas, membutuhkan waktu yang relative singkat, tidak banyak dipengaruhi oleh kondisi ekologi pertumbuhan dan pembentukan produk dapat diatur, dengan demikian harga dapat menjadi lebih stabil. Komponen utama lipida yang dihasilkan adalah triagliserida yang mengandung asam lemak esensial yaitu asam linoleat dan linolenat.

Percobaan ini bertujuan untuk menentukan pengaruh strain kapang *Aspergillus terreus* dan rasio C : N yang paling tepat dalam media fermentasi padat onggok-ampas tahu sehingga menghasilkan minyak sel tunggal dalam jumlah yang tinggi. Dengan demikian diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran dan informasi yang berarti bagi perkembangan penelitian tentang produksi minyak sel tunggal.

Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Kimia Pangan Program Studi Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian UNPAD Jatinangor, dari Bulan April – Oktober 2003.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode percobaan (*Experimental Method*) dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Pola Faktorial yang terdiri

atas dua faktor yang diulang tiga kali. Faktor pertama adalah strain kapang *A. terreus* yang terdiri dari taraf FNOC 6039 dan FNOC 6040. Faktor kedua adalah rasio C : N media onggok-ampas tahu yang terdiri dari taraf 25/1, 30/1, 35/1,40/1 dan 45/1.

Pengamatan terhadap media onggok-ampas tahu setelah fermentasi meliputi kadar air, kadar pati, kadar gula total, kadar lemak/minyak, kadar protein, nilai pH, bobot media (kehilangan total padatan) dan pengamatan terhadap sifat-sifat fisik minyak sel tunggal yang dihasilkan meliputi warna dan aroma.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara strain kapang *A. terreus* dan rasio C : N terhadap produksi minyak sel tunggal, tetapi secara serempak berpengaruh terhadap kadar pati, kadar gula total dan kadar protein media onggok-ampas tahu. Strain kapang *A. terreus* yang paling berpotensi untuk memproduksi minyak sel tunggal adalah *A. terreus* FNOC 6040 dengan nilai rata-rata kadar lemak/minyak sebesar 12,34%. Rasio C : N yang paling baik untuk produksi minyak sel tunggal adalah rasio C : N = 45/1 dengan nilai rata-rata kadar lemak/minyak sebesar 12,04%. Dalam percobaan ini dilakukan pengamatan terhadap sifat-sifat fisik minyak kapang *A. terreus* khususnya warna dan bau. Adapun minyak kapang *A. terreus* yang dihasilkan berwarna kuning kecoklatan dan berbau amis (*fishy flavor*).

## SUMMARY

Fat/oil is an important nutrient for a healthy body. Considering the ever-increasing annual demand for cooking oil as a result of the rapid increase in population, new sources of poly-unsaturated fats/oils must be searched for.

One potential source is the Single Cell Oil (SCO) production, which does not require vast areas of land, production time is relatively short, environmental conditions have but little influence. On product synthesis and production volume can be easily controlled. Consequently, oil prices will be relatively stable. Moreover, the tri-acyl-glycerides produced contain the essential fatty acids, linoleic and linolenic acids.

The objectives of this research was to study the influence of two mold strains of *A. terreus* and the C/N ratio of the growth medium consisting of cassava starch and processing wastes on SCO production. This information will serve as information for further research on SCO production.

This research was conducted at the Food Microbiology and the Food Chemistry Laboratories of the Agricultural Technology Department, Faculty of Agriculture, Padjadjaran University at Jatinangor, Sumedang.

A Factorial Randomized Block Design with 2 factors and 3 replications was used. The first factor was the *A. terreus* strain consisting of 2 levels respectively the FNOC 6039 and the FNOC 6040 strain. The second factor was the C/N ratio of the growth medium, consisting of 5 levels respectively 25/1, 30/1, 35/1, 40/1 and 45/1.

Post-fermentation observations on the growth medium slabs consisted of moisture, starch, total glucose, fat / oil and proteins content, pH, total solid loss. The SCO obtained was evaluated for color and flavor.

No interaction effects were observed between *A. terreus* strain and the C/N ratio of the growth medium on SCO production but both factors simultaneously influenced starch total glucose and protein constants. The FNOG strain gave the highest rate of SCO production, averaging 12.34%. The best C/N ratio was 45/1, producing 12.04% SCO. The crude SCO was brownish yellow in color and was slightly fishy in aroma.

## KATA PENGANTAR

Tulisan ini merupakan Laporan Hasil Penelitian yang dibiayai oleh Proyek Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar DIKTI Departemen Pendidikan Nasional Tahun Anggaran 2003/2003. penelitian ini dilaksanakan dari April sampai Oktober 2003 di Laboratorium Mikrobiologi pangan; Kimia Pangan, Program Studi Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jatinangor.

Atas terlaksananya penelitian ini, perkenankanlah kami menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yth :

1. Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi, atas kesempatan yang diberikan.
2. Rektor Universitas Padjadjaran, atas kesempatan yang diberikan.
3. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Padjadjaran, yang mensponsori penelitian ini.
4. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran atas fasilitas yang diberikan.
5. Para Staf dan Mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, yang telah membantu dalam pelaksanaannya.

Akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkannya.

Bandung, Oktober 2003

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN</b> .....	iii
<b>SUMMARY</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TTABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1. Limbah Industri Pertanian</b> .....	6
2.1.1. Onggok .....	6
2.1.2. Ampas Tahu .....	8
<b>2.2. Kapang <i>Aspergillus</i></b> .....	10
<b>2.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Produksi</b>	
<b>Minyak Sel Tunggal</b> .....	13
2.3.1. Suhu .....	14
2.3.2. pH .....	15
2.3.3. Waktu Inkubasi .....	16
2.3.4. Aerasi .....	16
2.3.5. Nutrien .....	17
2.3.6. Ratio Karbon (C) : Nitrogen (N) .....	19
<b>2.4. Fermentasi Padat</b> .....	20
<b>2.5. Produksi Minyak Sel Tunggal</b> .....	20
<b>III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN</b> .....	26
<b>IV. METODE PENELITIAN</b> .....	27
<b>4.1. Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	27



4.2. <b>Bahan dan Alat</b> .....	27
4.3. <b>Metode Penelitian</b> .....	28
4.4. <b>Pelaksanaan Penelitian</b> .....	29
4.4.1. Penelitian Tahap Pertama .....	29
4.4.2. Penelitian Tahap Kedua .....	32
4.4.3. Pengamatan .....	32
<b>V. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	40
<b>5.1. Penelitian Utama</b> .....	40
<b>5.1.1. Pengamatan Terhadap Fermentasi Padat</b>	
<b>Onggok-Ampas Tahu</b> .....	40
5.1.1.1. Kadar Air .....	43
5.1.1.2. Kadar Pati .....	46
5.1.1.3. Kadar Gula Total .....	49
5.1.1.4. Kadar Protein .....	
5.1.1.5. Nilai pH .....	52
5.1.1.6. Bobot Berat .....	55
<b>5.1.2. Pengamatan Terhadap Produksi Minyak</b>	
<b>Sel Tunggal</b> .....	58
<b>5.2. Pengamatan Penunjang</b> .....	61
5.2.1. Pengamatan Terhadap Sifat-Sifat Fisik (Warna dan	
Bau) Minyak Kapang <i>Aspergillus terreus</i> .....	61
5.2.2. Pertumbuhan Kapang <i>Aspergillus terreus</i> .....	62
5.2.3. Analisis Bahan dasar Media Fermentasi .....	63
<b>VI. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	66
<b>6.1. Kesimpulan</b> .....	66
<b>6.2. Saran</b> .....	66

## DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR TABEL

No	Judul	Halaman
1.	Komposisi Kimia Onggok (%) .....	7
2.	Komposisi Kimia Ampas Tahu .....	9
3.	Pengaruh Strain Kapang <i>A. terreus</i> dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	41
4.	Pengaruh Strain Kapang <i>A. terreus</i> dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Pati Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	43
5.	Pengaruh Strain Kapang <i>A. terreus</i> dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	47
6.	Pengaruh Strain Kapang <i>A. terreus</i> dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	50
7.	Pengaruh Strain Kapang <i>A. terreus</i> dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	53
8.	Pengaruh Strain Kapang <i>A. terreus</i> dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Bobot Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	58
9.	Pengaruh Strain Kapang <i>A. terreus</i> dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Lemak/Minyak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	59
10.	Kandungan Karbon (C) dan Nitrogen (N) .....	63
11.	Analisa Proksimat Bahan Dasar Onggok dan Ampas Tahu (%bb)	64

## DAFTAR GAMBAR

No	Judul	Halaman
1.	Morfologi <i>Aspergillus</i> .....	10
2.	Morfologi Umum <i>A. terreus</i> pada Medium PADA dengan Pembesaran 200 kali .....	12
3.	Morfologi <i>A. terreus</i> FNOC 6039 pada Medium PADA dengan Pembesaran 200 kali .....	12
4.	Morfologi <i>A. terreus</i> FNOC 6039 pada Medium PADA dengan Pembesaran 200 kali .....	13
5.	Skema Biosintesis Lemak dalam Mikroorganisme Oleainous .....	24
6.	Skema Reaksi-reaksi Sintesis Yang Dikatalisis Oleh Enzim Lipase	25
7.	Diagram Alir Produksi Minyak Sel Tunggal .....	39
8.	Histogram Perubahan Kadar Air (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi .....	42
9.	Histogram Perubahan Kadar Pati (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi .....	45
10.	Histogram Perubahan Kadar Gula Total (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi .....	48
11.	Histogram Perubahan Kadar Protein (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi .....	51
12.	Histogram Perubahan Nilai pH (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi .....	54
13.	Histogram Perubahan Bobot (g) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi. ....	57
14.	Histogram Perubahan Kadar Lemak (g) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi. ....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul	Halaman
1.	Tata Letak Percobaan di Laboratorium .....	72
2.	Contoh Perhitungan Penentuan Kadar Karbon (C) dan Nitrogen (N) serta Formulasi Media Onggok-Ampas Tahu .....	73
3.	Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	78
4.	Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Pati Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	82
5.	Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	86
6.	Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Lemak/Minyak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	89
7.	Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	92
8.	Data dan Hasil Uji Statistik Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	95
9.	Data dan Hasil Uji Statistik Bobot Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%) .....	97
10.	Data Analisa Proksimat Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum Fermentasi .....	99
11.	Foto Sampel dan Hasil Penelitian Produksi Minyak Sel Tunggal oleh <i>Aspergillus terreus</i> dengan Sistem Fermentasi Padat Media Onggok-Ampas Tahu. ....	100
12.	Foto Minyak Kapang <i>Aspergillus terreus</i> .....	101

## I. PENDAHULUAN

Lemak/minyak merupakan nutrisi yang penting untuk menjaga kesehatan tubuh manusia. Sebagai sumber energi, lemak lebih efektif dibandingkan karbohidrat dan protein. Satu gram lemak/minyak dapat menghasilkan 9 Kal/g sedangkan karbohidrat dan protein hanya menghasilkan 4 Kal/g (Ketaren, 1986).

Kebutuhan lemak/minyak di dunia meningkat dari tahun ke tahun sejalan dengan makin bertambahnya jumlah penduduk. Kira-kira setengah dari kebutuhan yang dapat terpenuhi oleh produksi dunia berasal dari sumber yang ada sekarang. Dari produksi sekitar 60 juta ton/tahun, yang dikonsumsi oleh manusia kurang lebih 80% dan sisanya dimanfaatkan untuk industri (Evans and Ratledge, 1985).

Mengingat kebutuhan lemak yang terus meningkat maka perlu dicari suatu sumber lemak/minyak alternative yang mengandung senyawa-senyawa yang mendukung kesehatan yaitu senyawa asam lemak tidak jenuh jamak (*Polyunsaturated Fatty Acid/PUFA*).

Alternative sumber lemak/minyak yang mempunyai prospek cerah untuk dikembangkan adalah penggunaan mikroorganisme untuk produksi minyak sel tunggal (MST), dengan alasan tidak memerlukan lahan yang luas, membutuhkan waktu yang relative singkat, tidak banyak dipengaruhi oleh kondisi ekologi pertumbuhan dan pembentukan produk dapat diatur, dengan demikian harga dapat menjadi lebih stabil. Komponen utama lipida yang dihasilkan triasilgliserida (Boulton 1985), dan mengandung asam lemak esensial yaitu asam linoleat dan linoleat (Ratledge, 1983).

Mikroorganisme yang berlemak tinggi (*Oleaginous*) seperti kapang, khamir dan bakteri mempunyai potensi sebagai sumber alternative dari lemak/minyak. Kapang merupakan mikroorganisme *oleaginous* yang paling tepat untuk menghasilkan lemak dibandingkan dengan bakteri dan khamir. Hal ini disebabkan karena kapang lebih mudah

ditangani, dapat tumbuh pada kisaran pH yang rendah, dapat mendegradasi sumber karbon (C) yang kompleks dan mampu tumbuh cepat pada limbah serta dapat menghasilkan berbagai asam lemak.

Selain itu juga kapang telah banyak digunakan oleh masyarakat dalam pembuatan temped an oncom dengan sistem fermentasi padat, dimana sistem fermentasi tersebut lebih mudah penanganannya daripada sistem fermentasi cair oleh khamir. Pada umumnya, sebagian besar lemak kapang merupakan asam lemak oleat, palmitat dan linoleat. Sebagian kecil terdiri dari asam stearat, linolenat dan palmitoleat.

Sebagian besar pembentukan lemak dalam kapang mengikuti pertumbuhan sel, namun ada beberapa kapang yang mensintesis lemak setelah tercapai fase pertumbuhan stasioner (Ratledge dan Wilkinson, 1988). Jumlah kapang yang digolongkan sebagai *oleaginous* belum diketahui secara pasti. Menurut Ratledge (1982) dalam Bull (1983), ada beberapa genus kapang yang mengandung lemak lebih dari 25% seperti *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* dan *Fusarium*. Spora pada beberapa jenis kapang sering ditemui mengandung lemak yang tinggi, yaitu ada yang mencapai 35%. Walaupun kandungan lemak dalam miselium dari kapang yang sama jauh lebih rendah, dan banyak jenis asam lemak dalam spora yang menarik perhatian, tetapi sporulasi kapang tidak diinginkan dalam proses skala besar.

Minyak sel tunggal (MST) mengandung asam lemak tidak jenuh ganda tertentu seperti asam gamma linolenat (*GammaLinolenic Acid/GLA*) dan eikosapentaenoat (EPA). GLA adalah asam lemak omega-6 yang merupakan turunan asam linoleat. Asam linoleat merupakan asam lemak esensial yang harus disuplai dari makanan. GLA merupakan senyawa penting pembentukan prostaglandin dan dapat digunakan sebagai *Health Food Supplement* untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan akibat gizi lebih

seperti jantung koroner, hipertensi dan obesitas. Oleh karena itu minyak mikroba mempunyai fungsi *dietik* dan *terapeutik* sehingga dapat disebut sebagai *High Value Oil*.

Produksi GLA dari kapang telah dilakukan dalam skala industri di Inggris dan Jepang dengan menggunakan kapang dari ordo *Mucorales* yaitu *Mucor javanicus* dan *Motierella isabellina*. Di Indonesia, penelitian terhadap kapang penghasil GLA telah dilakukan dengan melakukan seleksi terhadap 11 kapang *Mucor* (Nuraida *et al.*, 1995) dan 11 kapang *Rhizopus* (Suliantari *et al.*, 1996).

*Aspergillus* adalah kapang utama yang digunakan dalam proses fermentasi kecap, atuco dan miso. Diketahui bahwa *Aspergillus flavus* mampu memproduksi lemak (%w/w) sebesar 28%, *A. nidulans* sebesar 51%, *A. ochraceus* sebesar 48% dan pada *A. terreus* sebesar 57%. Dari beberapa spesies kapang *Aspergillus* tersebut, terlihat bahwa *A. terreus* merupakan salah satu jenis kapang yang dapat memproduksi lemak dalam jumlah tinggi. Selain itu juga lemak yang diproduksi oleh *A. terreus* mempunyai komposisi asam lemak tidak jenuh yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis kapang lainnya. Diketahui bahwa kandungan asam lemaknya hampir sama dengan minyak kelapa sawit yang terdiri dari asam oleat dan linoleat (Ratledge, 1974 *dalam* Birch *et al.*, 1976).

Adapun strain kapang *A. terreus* yang dicoba dalam penelitian ini adalah FNOC 6039, FNOC 6040, FNOC 6125 dan FNOC 6126. Namun dari keempat strain tersebut hanya dua strain *A. terreus* yang digunakan yaitu FNOC 6039 dan FNOC 6040 karena kedua strain tersebut memiliki beberapa keunggulan dalam produksi minyak sel tunggal.

Kapang *Aspergillus* mempunyai kemampuan untuk menguraikan limbah, sehingga limbah industri pertanian seperti ampas tahu, onggok (ampas tapioka), dedak padi, molase, limbah cair tapioka dan tahu dapat dicoba sebagai medium pertumbuhan untuk produksi minyak sel tunggal.

Limbah industri pertanian seperti onggok (ampas tapioka), ampas tahu dan dedak padi biasanya masih kaya akan nutrisi sehingga penanganannya yang kurang baik dapat menyebabkan pencemaran lingkungan yang sulit dikendalikan.

Penggunaan limbah industri pertanian diharapkan dapat menekan total biaya produk dari segi biaya bahan mentah dan sekaligus mengurangi efek negative dari limbah; karena hamper 80% biaya untuk produksi lemak/minyak dari kapang adalah biaya untuk media pertumbuhan (Linberg dan Hansson, 1991).

Selama proses fermentasi, kapang membutuhkan nutrien untuk kehidupan dan pertumbuhannya yaitu (1) sumber karbon, (2) sumber nitrogen, (3) sumber energi dan (4) faktor pertumbuhan yang terdiri dari vitamin dan mineral (Fardiaz, 1992).

Menurut Birch *et al.* (1976), keefektifan mikroorganisme sebagai penghasil minyak sel tunggal sangat tergantung pada kualitas minyak yang akan diproduksi serta harga dan efisiensi perubahan substratnya.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi produksi minyak sel tunggal antara lain suhu, pH, waktu inkubasi, aerasi, nutrien meliputi sumber karbon, nitrogen, vitamin dan mineral serta rasio karbon (C) : nitrogen (N).

Rasio karbon dan nitrogen merupakan faktor penting dalam produksi minyak sel tunggal. Rasio C : N dalam medium fermentasi berperan sebagai sumber nutrien yang dibutuhkan untuk membentuk energi dan menyusun komponen-komponen sel. Setiap mikroorganisme bervariasi dalam kebutuhannya akan rasio C : N tersebut.

Menurut Rahman (1989), rasio C : N yang digunakan dalam industri fermentasi harus memenuhi beberapa kriteria berikut ini : dapat memproduksi biomassa dengan hasil maksimum untuk setiap gram substratnya, dapat menekan pembentukan produk yang tidak diinginkan sampai serendah mungkin dan memungkinkan pembentukan produk fermentasi dengan laju maksimum serta mutu yang konsisten.



Berbagai bahan atau substrat yang memenuhi kriteria di atas antara lain adalah molase, sereal, pati, glukosa, sukrosa dan laktosa sebagai sumber C dan garam ammonium, urea, nitrat, *corn steep liquor*, tepung kedelai, limbah rumah potong hewan dan sisa-sisa fermentasi sebagai sumber N.

Rasio karbon dan nitrogen memiliki kisaran yang luas tergantung jenis kapangnya. Rasio karbon dan nitrogen yang optimum untuk pertumbuhan kapang dan produksi lemak/minyak adalah 65 : 1 dan 80 : 1 (Wassef, 1975). Rasio karbon dan nitrogen yang lebih tinggi, tetapi pertumbuhan selnya lebih lambat, sehingga secara keseluruhan produktivitas lemaknya lebih rendah.

Nakahara *et al.* (1992) dalam Djuhana Wati (1995) meneliti pengaruh rasio C : N pada *Mucor isabellina* IFO 7884. Ternyata kandungan lemak meningkat, dengan meningkatnya rasio C : N. Produksi lemak tertinggi (67%) diperoleh pada rasio C : N 62,9 : 1. Kandungan asam gamma linolenat pada rasio C : N = 62,9; 15,7 dan 7,9 adalah 3,9%, 5,7% dan 6,6%.

Untuk memenuhi kebutuhan rasio karbon dan nitrogen tersebut maka diperlukan media fermentasi padat yang terdiri dari onggok (ampas tapioka) sebagai sumber karbon dan ampas tahu sebagai sumber nitrogen.

Dari masalah-masalah yang dikemukakan di atas, maka timbul pemikiran untuk memilih strain kapang *A. terreus* yang berpotensi dalam memproduksi minyak sel tunggal dan mencari rasio C : N yang optimum dalam media untuk pertumbuhan sel kapang dan produksi minyak sel tunggal.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Limbah Industri Pertanian**

#### **2.1.1. Onggok**

Industri tapioka disamping menghasilkan produk utama berupa tepung tapioka juga menghasilkan limbah yang terdiri dari limbah cair dan padat. Limbah cair berasal dari proses pengendapan yaitu filtrate (hasil saringan) yang dipisahkan dari endapan patinya.

Limbah padat dari produksi tapioka disebut ampas tapioka atau onggok yang merupakan hasil sampingan industri tapioka berbentuk padat yang berasal dari unit ekstraksi. Pada proses ekstraksi ini hasil parutan ketela pohon ditambahkan air lalu disaring dengan menggunakan kain saring, sehingga diperoleh suspensi pati sebagai filtratnya dan ampas yang tertinggal di kain saring. Komponen penting yang terdapat dalam onggok adalah kandungan zat organik berupa pati dan serat kasar. Kandungan ini berbeda untuk setiap daerah asal, jenis dan mutu ubi kayu, teknologi yang digunakan dan penanganan ampas itu sendiri.

Pada tabel 1. terlihat kandungan pati pada onggok sekitar 60 – 80% dari berat kering. Oleh sebab itu onggok cukup potensial digunakan sebagai sumber karbon dalam fermentasi padat, meskipun masih memerlukan suplementasi zat gizi seperti nitrogen dan unsure-unsur mineral lainnya (Tjiptadi dan Sutamiharja, 1985). Adapun komposisi kimia onggok dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Onggok (%)

Komponen	Komposisi		
	1	2	3
Air	7,43	12,70	16,80
Abu	0,84	9,70	8,50
Serat Kasar	9,78	9,10	8,14
Lemak	0,50	1,00	0,25
Protein	1,70	2,50	0,42
Pati	79,75	65,90	62,97
Mineral :			
Ca	0,38	0,26	0,32
P	0,03	0,05	0,03

Sumber : 1 : Pardede (1994)  
 2 : Sundhagul (1972)  
 3 : Ciptadi (1982)

Adanya zat organik ini kalau penanganannya tidak tepat akan menyebabkan kerusakan yang akan menimbulkan bau busuk dan pencemaran di lingkungan sekitarnya. Usaha pemerintah dalam mengatasi masalah ini antara lain dengan mengikut-sertakan instansi-instansi atau pihak-pihak yang terkait, untuk mengadakan penelitian percobaan mengenai pengolahan limbah ini, sebelum dibuang ke lingkungan.

Sebagian besar onggok masih dimanfaatkan sebagai makanan ternak. Selain itu onggok juga telah dimanfaatkan sebagai bahan campuran oncom, bahan baku produksi asam sitrat, gas metana dan bahan makanan ringan (Tjiptadi dan Sutamiharja, 1985). Kini onggok telah dimanfaatkan dalam penelitian sebagai substrat fermentasi untuk produksi selulosa (Jenie *et al.*, 1992 dalam Liang *et al.*, 1992), enzim  $\alpha$ -amilase (Saputro, 1987), enzim  $\alpha$ -galaktosidase (Andarwulan, 1986) dan angkak (Jenie dan Fachda, 1991). Secara industrial onggok telah dimanfaatkan untuk menghasilkan asam sitrat dan protein sel tunggal (Darmadjati, 1985 dalam Winarno, 1985).

Nuraida *et al* (1996) menyatakan bahwa penggunaan ekstrak onggok sebagai sumber karbon menghasilkan minyak dengan kandungan GLA tertinggi (91,20 mg/g minyak) tetapi miselium yang diperoleh dari media ini mempunyai kandungan minyak yang sangat rendah (2,54%). Sebaliknya minyak yang diperoleh dari miselium yang diproduksi pada campuran limbah cair tapioka dan onggok mengandung kadar GLA lebih rendah (42,85 mg/g minyak) tetapi kadar minyak pada miseliumnya lebih tinggi (12,58%).

### **2.1.2. Ampas Tahu**

Limbah padat yang diperoleh dari ekstraksi protein biji kedelai pada proses pembuatan tahu disebut ampas tahu. Ampas tahu ini merupakan fraksi yang tidak larut dalam air, sedangkan yang dibuat menjadi tahu adalah cairan/susu kedelai yang lolos kain saring setelah pendidihan bubur kedelai.

Proses pembuatan tahu tradisional hanya mampu mengekstrak sebagian protein kedelai, protein yang tidak terekstrak tetap bersama-sama matriknya dalam ampas tahu. Ampas tahu segar mempunyai tekstur yang kokoh walaupun kadar airnya tinggi dan memiliki daya tahan yang tidak lebih dari 24 jam dalam keadaan terbuka karena dapat terjadi kebusukan akibat timbulnya  $\text{NH}_3$  dan menurunkan tekstur (berair). Cara pengawetan ampas tahu adalah melalui pengeringan dengan oven menggunakan panas 45 – 50°C selama 24 – 48 jam (Prabowo *et al*, 1985).

Ampas tahu yang dihasilkan oleh tiap-tiap pabrik tahu mempunyai komposisi yang tidak sama. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan penggunaan bahan dasar campuran, peralatan maupun proses pengolahan yang dijalankan. Pada pengolahan tahu masih banyak protein yang tertinggal dalam ampas tahu. Komposisi kimi ampas tahu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia Ampas Tahu

Komponen		Komposisi	
		a	b
Air	(%)	7,00	9,00
Abu	(%)	3,80	*
Serat Kasar	(%)	19,69	26,60
Lemak	(%)	11,30	18,30
Protein	(%)	19,47	*
Pati	(%)	38,74	*
Karbohidrat	(%)	*	41,30
Mineral :			
Ca	(um/ml)	890,750	190,00
Mg	(um/ml)	358,520	*
Fe	(um/ml)	124,660	40,00
Cu	(um/ml)	5,550	*
Zn	(um/ml)	0,490	*
P	(um/ml)	*	290,00

Sumber : a : Ridawati (1993)  
 b : Dep. Kes. (1981)  
 \* : tidak ada data

Pemanfaatannya ampas tahu masih sangat terbatas. Di Jawa Tengah dan Jawa Timur ampas tahu digunakan untuk pembuatan tempe gembus. Di Jakarta dan Jawa Barat untuk pembuatan oncom. Selain itu ampas tahu digunakan secara langsung untuk makanan ternak. Dalam skala laboratorium ampas tahu sudah dimanfaatkan untuk produksi karotenoid dari *Neurospora sitophyla* (Pardede, 1994), untuk produksi pigmen angkak dari *Monascus purpureus* BC 88202 (Deanne, 1994). Dilaporkan bahwa campuran onggok-ampas tahu dengan rasio C : N 20 dapat menghasilkan asam gamma linolenat paling tinggi (27,3 mg/g minyak) diantara rasio C : N lainnya (Nawangsari, 1996).

## 2.2. Kapang *Aspergillus*

Kapang *Aspergillus* mempunyai fungsi utama untuk proses saccharifikasi zat pati beras. Namun beberapa spesies digunakan untuk fermentasi produk-produk tradisional seperti kecap asin, miso (tauco) dan untuk industri fermentasi seperti industri sake (Rahman, 1989). Klasifikasi kapang *Aspergillus* adalah sebagai berikut (Frazier, 1958) :

**Famili** : Moniliaceae **Genus** : *Aspergillus* **Spesies** : *A. nidulans*, *A. terreus*, dll.

Morfologi **Kapang** *Aspergillus* digambarkan pada Gambar 1. Karakteristik genus kapang *Aspergillus* adalah miseliumnya terdiri dari hifa yang bercabang-cabang dan berseptat, berwarna terang atau tidak berwarna. Miseliumnya sebagian masuk ke dalam medium dan sebagian ke luar. Sel kaki terkadang di dalam medium, terkadang di luar dan lebih besar dari bagian lain serta berdinding lebih tebal. Dari sel kaki timbul batang konidiofor dan tumbuh tegak lurus.

Gambar 1. Morfologi *Aspergillus* (William Carroll Frazier, 1958)

Aspeks atau ujung atasnya membentuk visikel yang membesar. Visikel tersebut akan ditumbuhi sterigmata primer dan sekunder. Sterigmata menghasilkan konidia. Konidia terbentuk oleh pemanjangan atau pembelahan sel sterigmata.

Kepala spora bervariasi dalam pengaturan, warna, ukuran dan bentuk. Umpamanya pada *Aspergillus niger* kepala spora berbentuk bulat, pada *A. terricola* var *Americana* berbentuk setengah bola, pada *A. clavatus* berbentuk elips, pada *A. flavipes* berbentuk kolumnar, dan banyak lagi bentuk maupun karakteristik lain (Rahman, 1989).

Cirri-ciri spesifik *Aspergillus* (Gambar 1) adalah sebagai berikut : hifanya berseptat dan miseliumnya bercabang, biasanya tidak berwarna, yang terdapat di permukaan merupakan hifa vegetatif, sedangkan yang muncul di atas permukaan umumnya merupakan hifa fertile, koloni kompak, kondiofora septat atau nonseptat, muncul dari “foot cell” (yaitu miselium yang membengkok dan berdinding tebal), kondioforanya membengkok menjadi visikel pada ujungnya dan membentuk sterigmata dimana tumbuh konidia, sterigmata biasanya sederhana, berwarna, atau tidak berwarna, konidia membentuk rantai yang berwarna hijau, coklat atau hitam dan beberapa spesies tumbuh baik pada suhu 37<sup>0</sup>C atau lebih (Fardiaz, 1992).

Adapun cirri-ciri spesifik *A. terreus* strain FNOC 6039 dan FNOC 6040 hampir mempunyai kesamaan yaitu kapang tersebut dapat mencapai pertumbuhan permulaan setelah 3 – 5 hari pada media agar miring, spora aseksualnya diproduksi dalam umlah banyak yang menyebar di permukaan media agar, sporanya berukuran kecil dan ringan, koloninya kompak serta tahan terhadap keadaan kering. Kumpulan spora *A. terreus* FNOC 6039 berwarna coklat krem sedangkan strain FNOC 6040 sporanya berwarna coklat kekuningan.

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat morfologi umu *A. terreus* sebagai berikut : sel kakinya tidak begitu jelas terlihat, kondioforanya nonseptat, kondiofora

membengkan menjadi visikel pada ujungnya dan membentuk sterigmata dimana tumbuh konidia, sterigmata sederhana berwarna krem kehijauan. Untuk lebih jelasnya morfologi *A. terreus* FNOG 6039 dan FNOG 6040 dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.

Gambar 2. Morfologi Umum *A. terreus* pada Medium PADA dengan Pembesaran 200 kali

Gambar 3. Morfologi *A. terreus* FNOG 6039 pada Medium PADA dengan Pembesaran 200 kali



Gambar 4. Morfologi *A. terreus* FNOC 6040 pada Medium PADA dengan Pembesaran 200 kali

### **2.3. Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Produksi Minyak Sel Tunggal**

Akumulasi lemak pada sebagian mikroorganisme *oleaginous* yang tumbuh dalam kultur *batch* mengikuti pola dua tahap. Tahap pertama ialah perkembangan sel yang tumbuh dengan laju maksimum. Tahap ini berlangsung terus sampai komponen nutrisi selain karbon, biasanya nitrogen telah habis. Pembentukan sel-sel baru, yang membutuhkan sintesa protein, RNA, DNA dan sebagainya, tidak dapat diteruskan karena habisnya nitrogen (fosfat atau nutrisi lainnya). Setelah itu, karbon yang berlebih akan terus dikonsumsi dan dikonversi oleh mikroorganisme *oleaginous* menjadi lemak yang terakumulasi pada jaringan intraseluler (Rahman, 1992).

Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi minyak sel tunggal adalah :

### 2.3.1. Suhu

Suhu lingkungan sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Suhu pertumbuhan optimal kapang yang bersifat mesofilik berkisar 25 – 30°C. Peningkatan suhu pertumbuhan pada kisaran optimum umumnya disertai dengan peningkatan kandungan lemak dan kapang (Shaw, 1965).

Nakahara et al. (1992) dalam Kyle dan Ratledge (1992) menyatakan bahwa pertumbuhan sel dan produksi minyak sel tunggal pada kapang *Mortierella rammaniana* var. *angulispora* IFO 8187 tidak dipengaruhi suhu pertumbuhan (20 – 30°C). tidak ada ketergantungan yang jelas antara suhu pertumbuhan dengan produksi biomassa atau kandungan lemak pada miselium kapang. Namun dari penelitian Nuraida et al. (1995) diketahui bahwa pada suhu 30°C produksi miselium pada kapang *Mucor* sedikit lebih tinggi dibandingkan bila kapang dibiakkan pada suhu 25°C. Peningkatan suhu inkubasi diyakini dapat meningkatkan konsumsi glukosa yang berarti pula meningkatkan sintesis lemak.

Pengaruh suhu yang paling nyata terhadap produksi minyak sel tunggal adalah perubahan komposisi asam lemaknya. Asam lemak tidak jenuh relatif meningkat pada suhu pertumbuhan yang relatif rendah (Summer dan Morgan, 1969 dalam Wassef, 1975).

Perubahan komposisi asam lemak yang dipengaruhi oleh perubahan suhu, ada hubungannya dengan aktivitas enzim desaturase. Enzim yang berperan dalam pembentukan ikatan rangkap ini akan terhambat aktivitasnya pada suhu yang tinggi. Hal ini memberi penjelasan mengapa pada suhu yang lebih rendah, kandungan asam lemak tidak jenuhnya tinggi (Gurr et al., 1969 dalam Wassef, 1975).

Suhu juga berpengaruh terhadap kelarutan oksigen. Kelarutan oksigen meningkat dengan menurunnya suhu. Oksigen mempengaruhi kecepatan desaturasi karena oksigen diperlukan dalam proses tersebut sebagai aseptor ion hydrogen. Oleh karena itu

ketidakjenuhan asam lemak akan meningkat dengan meningkatnya kelarutan oksigen (menurunnya suhu) (James *et al.*, 1969 udalam Wassef, 1975).

### **2.3.2. pH**

Kebanyakan kapang dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas yaitu pH 2 – 8,5 , tetapi biasanya pertumbuhannya akan lebih baik pada kondisi asam atau pH rendah (Fardiaz, 1992). Nilai pH optimum untuk pertumbuhan kapang berkisar antara 6,0 – 7,0, sedangkan pH optimum untuk produksi lemak bervariasi pada setiap spesies kapang. Kandungan lemak pada kapang yang ditumbuhkan pada kisaran pH 5,9 – 7,5 tidak berbeda nyata (Cantrell dan Dowler, 1971 dalam Wassef, 1975).

Pengamatan yang dilakukan oleh Kessell (1996) dalam Wassef (1975) terhadap beberapa kapang menunjukkan bahwa kapang-kapang tersebut dapat tumbuh dan menghasilkan kandungan lemak yang sama baik pada pH 4,0 maupun 8,0.

Nilai pH medium dipengaruhi oleh jenis sumber nitrogen yang digunakan Amonium sulfat menyebabkan pH medium turun tajam hingga 2,0 setelah 10 hari. Sebaliknya pemakaian urea sebagai sumber nitrogen menyebabkan pH sedikit meningkat hingga 5,0 – 6,0 (Djuhana Wati, 1995).

Penelitian yang dilakukan oleh Linberg *et al.* (1991) menggunakan medium dengan pH awal 5,0 atau 5,5. Nilai GLA pada pH 5,5 lebih tinggi dibandingkan pada pH 5,0. Nuraida *et al.* (1995) menyatakan bahwa kadar GLA pada minyak dipengaruhi secara nyata oleh suhu dan pH awal medium, dimana kadar tertinggi pada minyak diperoleh pada suhu 25<sup>0</sup>C dan pH 5,0.

### **2.3.3. Waktu Inkubasi**

Waktu inkubasi berhubungan dengan kesempatan mikroorganisme untuk memanfaatkan komponen nutrisi yang tersedia pada medium dan efektivitas sistem metabolisme mikroorganisme dalam memanfaatkannya.

Fase pertumbuhan mikroorganisme terbagi dalam fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan statis dan fase kematian (Fardiaz, 1992). Masa inkubasi mikroorganisme terbaik berada pada fase stasioner dan tidak boleh melebihi fase kematian. Untuk produksi GLA, diharapkan pada akhir masa inkubasi akumulasi asam lemak sudah mencapai titik maksimum. Produksi lemak kapang dengan sistem fermentasi padat mencapai maksimum setelah 6 hari fermentasi (Nawang Sari, 1996).

### **2.3.4. Aerasi**

Yoshida (1982) dalam Tsao (1982) menyatakan bahwa tujuan aerasi dalam fermentasi adalah untuk mensuplai oksigen dan pada saat yang sama akan memindahkan CO<sub>2</sub> dari sel mikroorganisme yang tersuspensi dalam cairan fermentasi.

Mikroorganisme aerob dan anaerob fakultatif membutuhkan oksigen pada proses desaturasi asam lemak. Aerasi dapat meningkatkan kelarutan oksigen sehingga meningkatkan derajat ketidakjenuhan asam lemak yang diproduksi (Erwin, 1973 dalam Bajpai dan Bajpai, 1993).

Aerasi dapat mempercepat pertumbuhan dan meningkatkan pemakaian sumber karbon yang tersedia. Aerasi tidak menyebabkan perbedaan nyata pada kandungan lemak total kultur kapang (Starkey, 1946 dalam Wassef, 1975).

Aerasi bisa menjadi faktor pembatas kenaikan jumlah sel karena dalam kasus-kasus tertentu, fermentasi alkohol (anaerob) dapat menghambat kenaikan sel. Bagi

kapang *Mucorales*, oksigen sangat penting terutama bila akan diproduksi miseliumnya dalam fermentor skala industri (Aggelis *et al.*, 1988 dalam Djuhana Wati, 1995).

Aerasi akan meningkatkan oksigen yang merupakan aseptor elektron terminal dari sitokrom oksidase. Reaksi hidroksilase diperlukan untuk pertumbuhan dan biosintesis asam lemak tidak jenuh (Wassef, 1975).

Nuraida (1997) menyatakan bahwa kadar GLA dalam minyak hasil fermentasi dengan kapang *Montierella inaequasporus* MO511/4 sebesar 58 mg/g minyak untuk kadar oksigen terlarut 5%. Nilai kadar GLA naik terus sejalan dengan naiknya kadar oksigen terlarut dalam medium fermentasi dan mencapai 82,3 mg/g minyak pada kadar oksigen terlarut 50%.

#### **2.3.5. Nutrien**

Karbohidrat merupakan substrat karbon terbaik untuk pertumbuhan kapang dan 15 – 18% gula yang tersedia dikonversi menjadi lemak. Kemampuan mengkonversi gula menjadi lemak bervariasi pada setiap kapang. Pada beberapa kapang, glukosa merupakan gula yang efisien untuk diubah menjadi lemak. Urutan terbaik sumber karbon untuk memproduksi lemak adalah glukosa, sukrosa dan fruktosa (Wassef, 1975).

Konsentrasi gula dalam medium akan menentukan rasio karbon dan nitrogen. Rasio karbon dan nitrogen sangat berpengaruh terhadap kandungan lemak yang dihasilkan (Wassef, 1975).

Penggunaan sumber karbon yang berasal dari bahan lain sudah dipelajari oleh Linberg dan Hansson (1991) dengan memanfaatkan kapang *Mucor rouxii*. Pemakaian pati dan hidrolisat pati memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan medium control yang menggunakan glukosa. Nuraida *et al.* (1995) menjelaskan bahwa konsentrasi glukosa pada medium pertumbuhan mempengaruhi kadar miselium kering

dan kadar lemak pada miselium kering. Konsentrasi glukosa yang dapat menghasilkan kadar lemak pada miselium tertinggi adalah 90 g/l medium (rasio C : N adalah 26,1).

Konsentrasi karbon yang terlampaui tinggi pada medium dapat menghambat pertumbuhan karena adanya perbedaan tekanan osmotik yang dapat mengakibatkan plasmolisis dan penghambatan sintesa enzim-enzim pada rantai respirasi.

Wassef (1997) dalam Paoletti dan Kritchevsky (1977) berpendapat bahwa nitrogen organik adalah sumber nitrogen yang baik untuk pertumbuhan anaerobic, tetapi yang lebih baik adalah nitrogen anorganik khususnya ammonium. Sumber nitrogen dapat berasal dari pepton, ekstrak khamir, urea, ammonium nitrat atau ammonium sulfat. Penggunaan ammonium nitrat sebagai tambahan sumber N anorganik terbukti baik untuk pertumbuhan kapang *Mucor* (Nuraida et al. 1995). Menurut Hansson et al. (1989), jumlah N terbatas akan merangsang dominasi asam lemak oleat.

Pertumbuhan dan reproduksi kapang membutuhkan vitamin. Hubungan produksi lipida dengan penambahan vitamin belum diketahui secara jelas. Namun pada umumnya defisiensi vitamin menyebabkan pengurangan kadar lemak (Wassef, 1977 dalam Paoletti dan Kritchevsky, 1977).

Fosfat, kalsium, kalium, sulfur dan magnesium merupakan mineral utama untuk pertumbuhan kapang. Sejumlah mineral dan unsure hara yang ditemukan dalam tubuh mikroorganisme untuk menjalankan fungsi khusus seperti kalium, kalsium, magnesium, besi, kobalt, tembaga, seng dan molibdat menandakan kebutuhannya akan unsure-unsur tersebut (Suhartono, 1989).

Pada *Saccaromyces cerevisiae*, fosfat dan NaCl meningkatkan produksi lemak (Combs et al., 1968 dalam Wassef, 1975), sedangkan Ca, Na dan Fe tidak berpengaruh (Steinberg dan Ordol, 1954 dalam Wassef, 1975).

Ion  $Zn^{2+}$  dan  $Fe^{2+}$  berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kandungan lemak kapang *Mortierella rammaniana* var *angulispora* IFO 8187. Pada konsentrasi yang sangat rendah, perubahan tingkat  $Zn^{2+}$  dan  $Fe^{2+}$  tidak mempengaruhi produksi biomassa. Perubahan konsentrasi  $Zn^{2+}$  tidak merubah total lemak kapang. Peningkatan  $Fe^{2+}$  berkorelasi dengan peningkatan kandungan lemak.. Ion  $Zn^{2+}$  dan  $Fe^{2+}$  berpengaruh terhadap komposisi asam lemak (Nakahara et al., 1992 dalam Kyle dan Ratledge, 1992).

### **2.3.6. Rasio Karbon (C) : Nitrogen (N)**

Rasio karbon dan nitrogen merupakan faktor penting bagi produksi minyak sel tunggal. Rasio karbon dan nitrogen memiliki kisaran yang luas tergantung jenis kapangnya. Rasio karbon dan nitrogen yang optimum untuk pertumbuhan kapang dan produksi lemak adalah 65 : 1 dan 80 : 1 (Wassef, 1975). Rasio karbon dan nitrogen yang lebih tinggi akan menghasilkan kandungan lemak yang lebih tinggi, tetapi pertumbuhan selnya lebih lambat, sehingga secara keseluruhan produktivitas lemaknya lebih rendah.

Nakahara et al., (1992) dalam Kyle dan Ratledge, (1992) meneliti pengaruh rasio karbon dan nitrogen pada *Mortierella isabellina* IFO 7884. Kapang ini ditumbuhkan dalam fermentor dengan kondisi pertumbuhannya adalah pH 4,5 dan suhu 30°C. ternyata kandungan lemak meningkat dengan meningkatnya rasio karbon dan nitrogen. Produktivitas lemak tertinggi (67%) diperoleh pada rasio karbon dan nitrogen 62,9 : 1. Kandungan asam gamma linolenat pada rasio karbon dan nitrogen 62,9; 15,7 dan 7,9 adalah 3,9%, 5,7% dan 6,6%.

Menurut Nawangsari (1996), campuran onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 20 : 1 dapat menghasilkan asam gamma linolenat paling tinggi (27,3 mg/g minyak) diantara rasio C : N lainnya.

#### **2.4. Fermentasi Padat**

Fermentasi adalah suatu proses biokimia yang menghasilkan energi dimana komponen organiknya bertindak sebagai penerima elektron (Fardiaz, 1992). Fermentasi medium padat merupakan proses fermentasi yang substratnya tidak larut dan tidak mengandung air bebas, tetapi cukup mengandung air untuk keperluan hidup mikroorganisme. Sebaliknya fermentasi cair adalah proses fermentasi yang substratnya larut atau tersuspensi dalam fase cair (Chalal, 1985).

Dibanding dengan fermentasi cair, kelebihan fermentasi padat adalah cara operasinya sederhana, rendahnya kadar air dapat menghambat tumbuhnya bakteri yang tidak diinginkan, bahan untuk media atau substratnya mudah diperoleh dan relatif murah harganya. Namun kelemahannya adalah pengukuran parameter-parameter proses sukar karena kurang homogen, memerlukan ruangan yang luas, membutuhkan banyak tenaga kerja, dan sebagian substrat umumnya memerlukan pra perlakuan (Frost dan Moss, 1987).

Hasseltine (1977) dalam Nagai (1979) menekankan bahwa substrat padat harus dalam bentuk yang memungkinkan berlangsungnya sirkulasi udara. Butiran substrat padat harus sedikit retak supaya spora dapat menempel dengan cepat pada permukaan butiran substrat dan segera setelah germinasi, penetrasi ke dalam butiran akan berlangsung dengan cepat pula.

#### **2.5. Produksi Minyak Sel Tunggal**

Minyak tidak hanya didapat dari tanaman maupun hewan, tetapi juga dihasilkan oleh mikroorganisme. Menurut Rahman (1992), mikroorganisme berlemak tinggi disebut sebagai mikroorganisme *Oleaginous*, yang menunjukkan potensial mikroorganisme sebagai sumber lemak atau minyak dan bukan merupakan penunjuk



mengenai keadaan fisiologi yang sebenarnya, dimana kandungan lemak atau minyak mungkin tidak tinggi.

Minyak sel tunggal secara umum berasal dari tiga sumber mikroorganisme (Svedsen, 1994) yaitu :

- a. Bakteri, seperti lemak dari *Staphylococcus aureus*, *S. hycus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Moraxella*.
- b. Kapang, seperti lemak dari *Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Aspergillus tereus*, *Mucor miehei* dan *Humicola lanuginose*.
- c. Khamir, seperti lemak dari *Candida antartika*, *C. rugosa* dan *C. cylindraceae*.

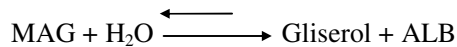
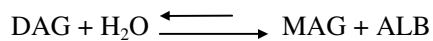
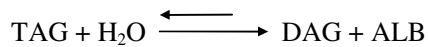
Sebagian besar khamir, kapang dan bakteri telah diidentifikasi cukup berpotensi untuk menghasilkan asam lemak, terutama untuk menghasilkan asam lemak tidak jenuh (PUFA). Kapang mempunyai kelebihan dibandingkan dengan khamir, yaitu dilihat dari kemampuannya untuk menggunakan limbah dan pertumbuhannya yang cepat pada limbah serta dapat menghasilkan berbagai asam lemak.

Penggunaan kapang untuk memproduksi asam lemak tidak jenuh lebih mendapat perhatian. Hal ini disebabkan karena kapang memiliki keunggulan dibandingkan dengan khamir dan mikroorganisme lain, yaitu kapang mudah ditangani, dapat tumbuh pada kisaran pH yang rendah sehingga dapat mencegah kontaminasi dari jenis bakteri maupun khamir, kapang dapat mendeteksi sumber karbon yang kompleks sebagai sumber makanannya, mampu tumbuh cepat pada limbah dan mampu menghasilkan berbagai asam lemak (Ratledge dan Wilkinson, 1988).

Minyak sel tunggal yang dihasilkan merupakan sumber asam lemak gamma linolenat. Pada mulanya asam gamma linolenat diketahui hanya terdapat dalam minyak biji *Evening Primrose* (*Oenothera biennis*). Bernhard dan Albrecht (1948) dan Shaw (1965) mendeteksi adanya asam gamma linolenat dalam lemak kapang dari ordo

*Mucorales*, yaitu *Phycomyces blakesleeanus*. Sekitar 16% dari kandungan asam lemak kapang tersebut merupakan asam gamma linolenat.

Minyak sel tunggal pada umumnya merupakan enzim ekstraselular yang dieksresi oleh mikroorganisme untuk penguraian lipida dalam medium pertumbuhannya. Menurut Desbulle (1972), lipase (E.C.3.1.1.3, *glycerol ester hidrolases*) didefinisikan sebagai enzim hidrolase untuk ester karboksilat yang mampu menghidrolisis tri-, di- dan monoasilgliserida. Secara skematik reaksi hidrolisis yang dikatalisis oleh lipase adalah sebagai berikut :



dimana TAG, DAG dan MAG masing-masing adalah tri-, di- dan monoasilgliserida serta ALB adalah asam lemak bebas.

Reaksi-reaksi hidrolisis tersebut bersifat bolak-balik yang berakhir pada keadaan kesetimbangan. Lipase juga dapat mengkatalisis pembentukan gliserida dari asam lemak dan gliserol. Beberapa jenis lipase juga telah dilaporkan dapat mengkatalisis reaksi bolak-balik hidrolisis/sintesis ester selain ester gliserol-asam karboksilat pada kondisi tertentu. Dengan demikian definisi lipase sebagai enzim hidrolitik terlalu sederhana untuk menggambarkan kemampuan enzim lipase yang sebenarnya (Desnuelle, 1972; Anonim, 1992).

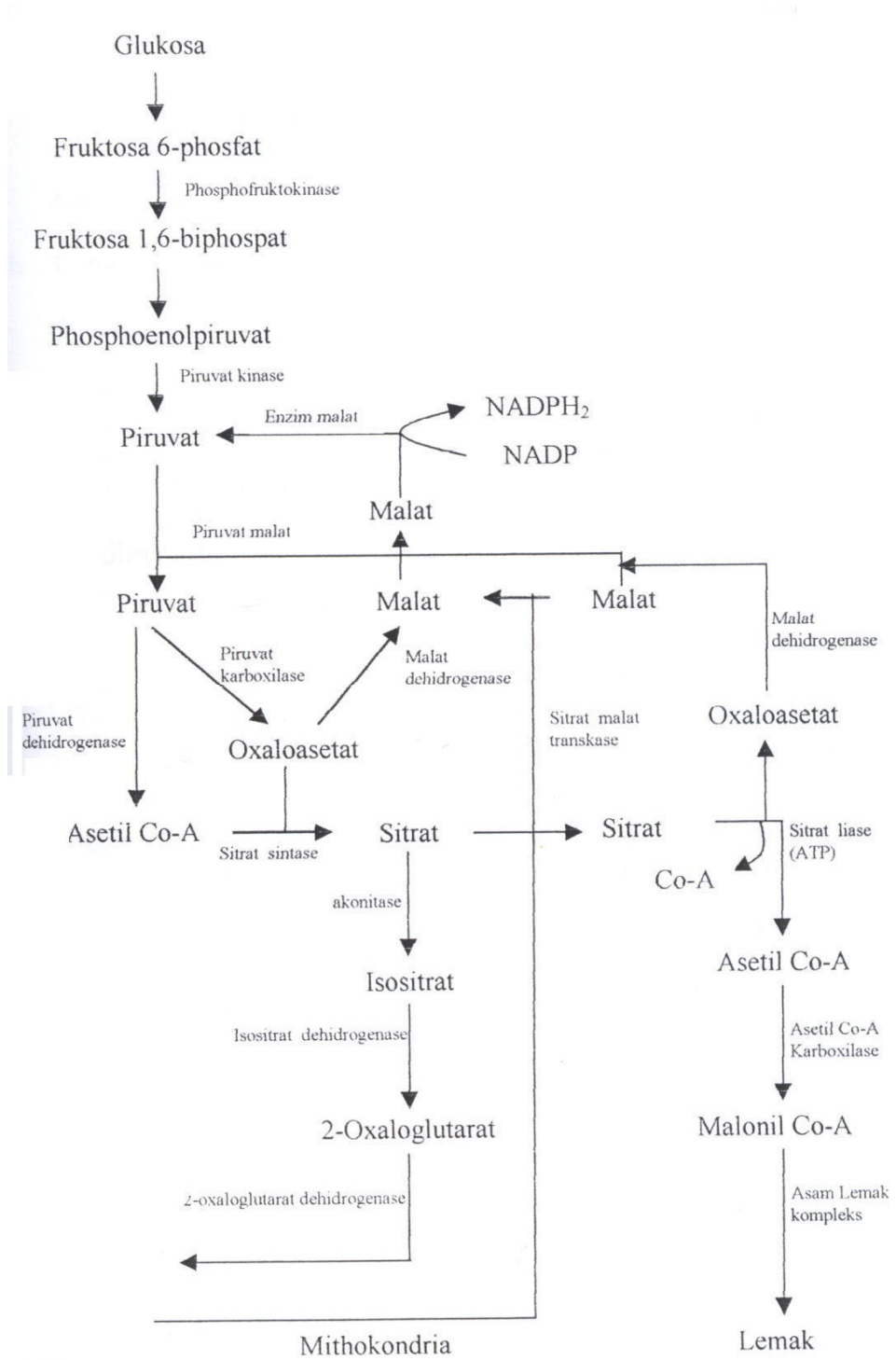
Reaksi yang dikatalisis lipase diduga terjadi melalui pembentukan suatu senyawa intermediet asil-enzim. Jenis reaksi yang dikatalisis tergantung pada kondisi dan jenis substrat, terutama jumlah air dalam lingkungan reaksi. Dalam kondisi iaqueusi dimana

banyak terdapat air, reaksi mengarah pada hidrolisis. Sebaliknya dalam kondisi *microaqueous* dimana jumlah air terbatas (kadar air < 1%) maka gugus asil dari senyawa *intermediet* asil enzim akan ditransfer ke molekul lain yang terdapat di dalam substrat seperti gliserol, alkohol atau bentuk ester lainnya. Dalam hal ini reaksi mengarah pada pemindahan atau pertukaran gugus asil (Macrae, 1983; Iwai dan Tsujisaka (1984) dalam Brogsstrom dan Brockman (1984)). Secara skematik reaksi-reaksi sintesis yang dikatalisis lipase diperlihatkan pada Gambar 6.

Adapun skema perubahan karbohidrat menjadi lemak dalam mikroorganisme *oleaginous* dapat dilihat pada Gambar 5. Rangkaian tahapan dalam proses akumulasi lemak tersebut adalah sebagai berikut :

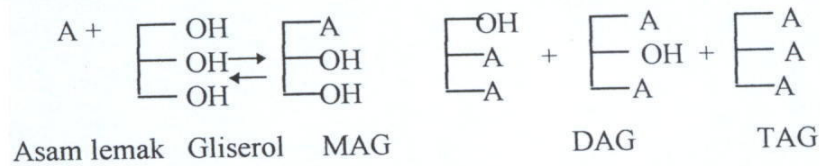
1. Ketika nitrogen habis dalam kultur, konsentrasi AMP (Adenosin Monophospat) intra seluler menjadi menurun dan akibatnya isositrat dehydrogenase akan berhenti fungsinya karena aktivitasnya sangat tergantung pada AMP tersebut.
2. Isositrat tidak dimetabolisme melalui siklus asam trikarboksilik dan kemudian isositrat dan sitrat akan terbentuk.
3. Sitrat diangkut keluar dari mitokndria lalu masuk ke dalam sitoplasma dengan membebaskan ATP (Adenosin Triphospat) yaitu sitrat lyase membentuk asetil Co-A dan oxaloasetat untuk biosintesis lemak.
4. Pengangkutan sitrat keluar dari mitokondria dihubungkan dengan malat yang berlawanan tanda panahnya. Malat ini dihasilkan dari oxaloasetat.

Rangkaian reaksi diatas terjadi karena piruvat tidak langsung diubah menjadi asetil Co-A dan juga karena astil Co-A yang terbentuk dalam mitokondria tidak dapat diangkut melewati membran mitokondria. Jadi hanya asetat atau asetil-karnitin yang dapat diangkut (Boulton dan Retledge, 1981 dalam Pape dan Rehm, 1986).



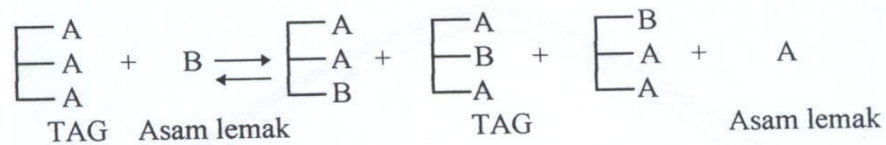
Gambar 5. Skema Biosintesis Lemak dalam Mikroorganisme *Oleaginous* (Boulton dan Ratledge, 1981 dalam Pape dan Rehm, 1986)

a. Esterifikasi

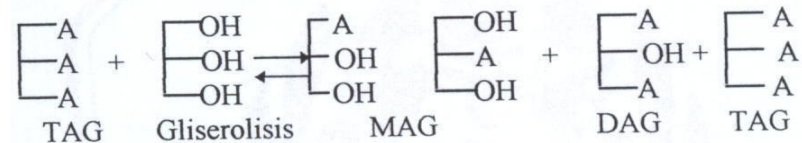


b. Transesterifikasi

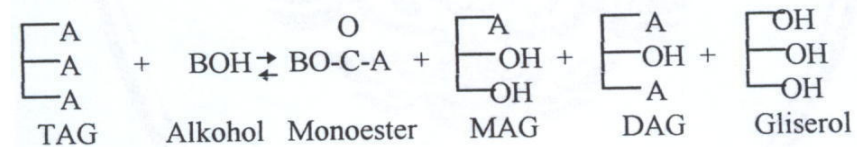
(i) Asidolisis



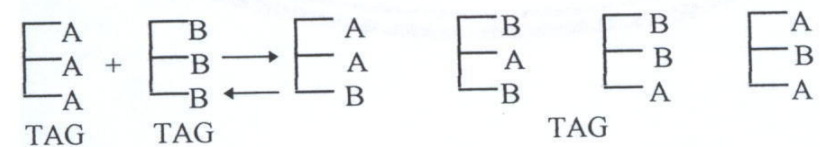
(ii) Gliserolisis



(iii) Alkoholisis



c. Interesterifikasi



Gambar 6. Skema Reaksi-reaksi Sintesis Yang Dikatalisis Oleh Enzim Lipase (Macrae, 1983; Iwa dan Tsujisaka (1984) dalam Brogsstrom dan Brockman (1984))

### **III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

Tujuan penelitian adalah untuk mempelajari pengaruh strain kapang *A. Terreus* dan ratio C : N yang paling tepat dalam media fermentasi padat onggok-ampas tahu, sehingga menghasilkan minyak sel tunggal dalam jumlah yang tinggi

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan sumbangan pemikiran dan informasi yang berarti bagi perkembangan penelitian tentang produksi minyak sel tunggal.

## **IV. METODE PENELITIAN**

### **4.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dengan dua tahap yaitu penelitian tahap pertama dan penelitian tahap kedua yang dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Kimia Pangan Program Studi Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Waktu penelitian dari bulan April sampai Oktober 2003.

### **4.2. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : limbah padat tapioka (onggok) yang merupakan hasil sampingan industri tapioka yang berasal dari unit ekstraksi pati singkong yang diperoleh dari Industri Tapioka Pak Dadang di Garut, ampas tahu yang merupakan limbah padat yang diperoleh dari ekstraksi protein biji kedelai pada proses pembuatan tahu yang berasal dari Perusahaan Tahu Pak Mamad Cikeruh Jatinangor, biakan murni (agar miring) *A. terreus* strain FNOC 6039 dan FNOC 6040 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM Yogyakarta, larutan mineral yang terdiri dari  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  sebagai sumber vitamin dan mineral, asam D-tartat, Potato Dextrose Agar (PADA) Malt Agar (MA), aquades, spirtus, alcohol 95% serta bahan-bahan untuk analisis kimia seperti larutan Luff Schorl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  6 N, KI 30%, NaOH 0,1 N, NaOH 4 N, NaOH 35%, HCl 4 N, HCl 0,1 N, HCl 25%, anylum, phenolphthalein 1%, pekat  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , selenium mixture,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  3% dan pelarut n-Hexana.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven cabinet, kompor gas, grinder, timbangan analitik, incubator, otoclave, mikroskop, thermometer, lampu spirtus, saringan, jarum ose, cawan Petri, labu ukur, Erlenmeyer, pipet volume, corong gelas

kimia, gelas ukur, batang pengaduk, pH meter, panik, baki plastic/kotak kue plastic persegi, plastic wrapping/kertas sampul, kapas, perban, aluminium foil dan alat-alat analisis kimia.

#### **4.3. Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan adalah metode percobaan (*Experimental Method*) dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Pola Faktorial. Penelitian ini terdiri dari dua faktor yang masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Faktor-faktor dan tarafnya adalah sebagai ebrikut :

1) Faktor pertama adalah strain kapang *A. terreus* (S) yang terdiri dari dua taraf, yaitu :

S<sub>1</sub> : *A. terreus* FNOC 6039

S<sub>2</sub> : *A. terreus* FNOC 6040

2) Faktor kedua adalah rasio C / N ® dari onggok dan ampas tahu yang terdiri dari lima taraf, yaitu :

r<sub>1</sub> : C/N 25

r<sub>2</sub> : C/N 30

r<sub>3</sub> : C/N 35

r<sub>4</sub> : C/N 40

r<sub>5</sub> : C/N 45



#### **4.4. Pelaksanaan Penelitian**

##### **4.4.1. Penelitian Tahap Pertama :**

###### **1. Seleksi Kapang *A. terreus* (Srikandi Fardiaz, 1987)**

Pertama-tama membuat Medium Agar Cawan yaitu Potato Dextrose Agar (PADA) dan Malt Agar (MA) setelah medium membeku, lalu diinokulasikan masing-masing spora kapang *A. terreus* strain FNOC 6125, FNOC 6126, FNOC 6039 dan FNOC 6040 ke medium PADA dan MA tersebut. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 30<sup>0</sup> C selama 3-5 hari. Pengamatan dinyatakan secara relatif terhadap kecepatan pertumbuhan dan ketebalan spora masing-masing kapang tersebut. Strain kapang *A. terreus* yang memberikan hasil yang baik yaitu strain FNOC 6039 dan FNOC 6040 yang selanjutnya digunakan untuk penelitian tahap ke dua.

###### **2. Persiapan Kultur Kapang**

###### **a. Pemeliharaan Biakan Murni (Betty D. Sofiah, dkk. 1998)**

Memelihara dan memperbanyak biakan murni *A. terreus* strain FNOC 6039 dan FNOC 6040 dengan menginokulasi secara zig-zag pada media agar miring PADA dan MA dengan menggunakan ose steril secara aseptis. Selanjutnya setelah ditutup lalu diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup> C selama 3 - 5 hari. Perbanyak dari biakan murni ini digunakan sebagai kultur stok.

###### **b. Pembuatan Inokulum/Laru dari Nasi (Betty D. Sofiah dkk, 1998)**

Pembuatan inokulum ini dilakukan dengan cara menginokulasi kultur stok *A. terreus* masing-masing strain FNOC 6039 dan FNOC 6040 ke dalam cawan petri yang berisi nasi setengah matang. Caranya dengan menuangkan 1 ml aquades ke dalam tabung reaksi yang berisi kultur stok tersebut lalu dikocok-kocok dengan ose steril secara aseptis. Setelah itu lalu dituangkan ke dalam

cawan petri tersebut dan diaduk sampai rata bercampur dengan nasi. Perbandingan nasi setengah matang dengan kultur stok *A. terreus* adalah nasi setengah matang sebanyak 100 g menggunakan 2 agar miring. Selanjutnya diinkubasi selama 5 - 7 hari pada suhu 30<sup>0</sup> C dalam keadaan dibungkus dan diletakkan terbalik. Apabila telah tumbuh spora kapang secara merata pada nasi hari ke-5, maka dapat dikeringkan inokulum tersebut dalam oven pada suhu 40 - 45<sup>0</sup> C selama 2 hari, lalu dihancurkan sehingga diperoleh inokulum/laru bubuk. Kemudian inokulum bubuk tersebut dicampurkan dengan tepung beras yang telah disangrai dan disaring. Perbandingan inokulum bubuk dengan tepung beras adalah 19 : 1. Inokulum/laru yang telah siap digunakan dapat disimpan dalam desikator agar tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lainnya.

**c Isolasi Kapang dari Inokulum Bubuk/Laru (Betty D. Sofiah dkk, 1998)**

Isolasi kapang dilakukan dengan cara : Menimbang 1 g inokulum bubuk, lalu dilakukan pengenceran sampai dengan 10<sup>-4</sup> dengan menggunakan buffer fosfat sebanyak 9 ml untuk masing-masing tabung reaksi. Memipet 1 ml untuk masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri steril. Memasukkan media PADA (Potato Dextrose Agar) cair (45<sup>0</sup> C) sebanyak 15 ml ke dalam cawan petri untuk meratakan penyebaran inokulum dengan cara menggoyang-goyang cawan petri tersebut. Setelah PADA membeku lalu dibungkus dan diinkubasi dalam keadaan terbalik pada suhu 30<sup>0</sup> C selama 3 - 5 hari. Apabila telah terbentuk koloni kapang maka dapat diamati kultur kapang meliputi warna spora, ukuran spora, bentuk spora, ketebalan spora, warna miselium dan kecepatan pertumbuhannya. Untuk memperoleh gambar struktur dan identifikasi kapang dapat dilakukan dengan membuat preparat di atas gelas objek yang diberi tetes

gliserol 10%, kemudian secara hati-hati menggunakan jarum ose steril mengambil miselium kapang beserta sporanya untuk diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran (lensa 10X dan 45X). Dari isolasi kapang tersebut juga dapat langsung menghitung jumlah total kapang dengan menggunakan suatu standar yang disebut “Standard Plate Count” sehingga mencapai jumlah  $5 \times 10^6$  spora/g laru.

### 3. Persiapan Media Fermentasi

Bahan dasar untuk media fermentasi padat terdiri dari onggok yang digunakan sebagai sumber karbon (C) dan ampas tahu yang digunakan sebagai sumber nitrogen (N). Onggok dan ampas tahu tersebut dikeringkan dan digiling menjadi tepung, kemudian dibuat campuran media padat, yaitu onggok-ampas tahu. Pada campuran media onggok-ampas tahu dilakukan formulasi media berdasarkan perbandingan karbon dan nitrogen (C/N). Penentuan kadar karbon dengan cara memperhitungkan sumber karbon yang berasal dari :

- a. Gula sebagai glukosa
- b. Pati (by different), sebagai homopolimer dari glukosa
- c. Lemak, dengan asumsi merupakan trigliserida sederhana
- d. Protein yang merupakan polimer asam amino dengan asam amino dominan asam glutamat

Berdasarkan hal tersebut kadar karbon dari masing-masing bahan dasar dapat diketahui dengan menjumlahkan keempat sumber karbon tersebut, sedangkan penentuan kadar nitrogen menggunakan metode mikro Kjeldahl (Rita Utari, 1997).

Untuk mengetahui sejauh mana pengaruh rasio C : N pada fermentasi padat onggok-ampas tahu dalam proses akumulasi lemak kapang dengan menggunakan beberapa variasi rasio C : N yaitu 20 :1, 25 :1, 30 :1, 35 : 1, 40 : 1, 45 : 1, 50 : 1, 55 : 1 dan 60 : 1.

#### **4. 4. 2. Penelitian Tahap Kedua :**

Penelitian tahap kedua yang dilakukan adalah melakukan fermentasi padat onggok-ampas tahu dengan berbagai rasio C : N yaitu 25 : 1, 30 : 1, 35 : 1, 40 : 1 dan 45 :1. Inokulum bubuk/laru yang digunakan adalah *A. terreus* strain FNOC 6039 dan FNOC 6040 dengan suhu pertumbuhan sekitar 30<sup>0</sup> C dan pH pertumbuhan dalam media sekitar 5,0. Apabila belum mencapai pH tersebut maka dapat ditambahkan asam D-tartat.

#### **4. 4. 3. Pengamatan :**

Pengamatan dilakukan terhadap onggok-ampas tahu awal, media siap untuk fermentasi dan media akhir fermentasi serta produksi minyak sel tunggal yang dilakukan sebagai berikut :

##### **1. Kadar Air Metode Oven (Sudarmadji dkk, 1984)**

Menimbang sampel sebanyak 2 g dan dimasukkan ke dalam cawan kering yang telah diketahui beratnya. Kemudian dikeringkan dalam oven selama 3 - 5 jam pada suhu 100 - 105<sup>0</sup> C. Setelah itu didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali sampai diperoleh berat yang konstan (selisih berturut-turut < 0,2 mg). Persen kadar air dihitung berdasarkan basis basah dengan rumus :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Kehilangan berat (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100\%$$

## 2. Kadar Lemak/Minyak Metode Soxhlet (Sudarmadji dkk, 1984)

Sampel kering yang telah dihaluskan dan ditimbang sebanyak 3 - 5 g lalu dibungkus dengan kertas saring (hull) secara kuantitatif dan diletakkan pada labu soxhlet. Dibawahnya diletakkan labu lemak yang telah diketahui beratnya dan dipasang kondensornya. Pelarut yang digunakan adalah n-Hexana. Panaskan soxhlet tersebut. Ekstraksi dilakukan sampai 10 sirkulasi. Setelah ekstraksi selesai, kemudian pelarut dalam labu lemak didestilasi selanjutnya labu lemak tersebut dipanaskan dalam oven pada suhu 105<sup>0</sup> C sampai beratnya konstan dan tidak berbau zat pelarut lagi. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kadar lemak/minyak dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Kadar lemak/minyak (\%)} = \frac{\text{Selisih berat labu (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100\%$$

## 3. Kadar Protein Metode Kjeldahl-Mikro (Sudarmadji dkk, 1984)

Menimbang 0,5 - 1 g bahan, dimasukkan ke dalam labu kjeldahl. Menambahkan 25 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat + katalisator : CuSO<sub>4</sub> 1 g atau Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> atau satu sendok kecil selenium mixture dan 2 - 3 butir batu didih. Lalu dipanaskan dengan api kecil dalam lemari asam dan sesekali digoyang-goyang. Dekstruksi selesai bila larutan sudah berwarna hijau jernih. Didinginkan dengan cara mengalirkan air ledeng pada tabung. Setelah itu lalu ditambah 50 ml air suling dan dilakukan destruksi lagi selama 30 menit serta didinginkan kembali. Larutan yang telah jernih tersebut lalu

dimasukkan dalam labu destilasi, ditambah aquades secukupnya dan 35 ml NaOH 35%, selanjutnya didestilasi perlahan-lahan. Destilatnya ditampung dengan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 3% (asam borat) yang telah diberi beberapa tetes indikator campuran methyl merah + brom kresol hijau. Destilasi dihentikan bila satu tetes destilat terakhir tidak merubah warna kertas lakmus merah yang dibasahkan dengan air suling. Membilas alat penyuling dengan aquades, air bilasannya dicampur dengan destilat. Kemudian dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna dari hijau menjadi violet. Kadar protein dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml HCl blanko}) \times \text{N HCl} \times 6,25 \times 14}{100\% \times \text{mg sampel}}$$

$$\text{Kadar Nitrogen (\%)} = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml HCl blanko}) \times \text{N HCl} \times 14}{\text{mg sampel} \times 100\%}$$

#### 4. Kadar Gula Total Dengan Metode Luff Schoorl (Sudarmadji dkk, 1984)

Menimbang bahan sekitar 2,5 g secara teliti dan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 ml. Tambahkan 200 ml ethanol 40% atau aquades 50 ml. Kemudian tambahkan 5 ml larutan carez I, lalu digojlog selama 1 menit. Selanjutnya ditambahkan 5 ml larutan carez II dan digojlog lagi selama 1 menit. Tambahkan lagi ethanol 40% atau aquades sampai garis batas. Gojlog sebentar larutannya menjadi homogen lalu disaring. Pipet 50 ml filtrat secara teliti, masukkan dalam gelas kimia, kemudian dievaporasi sampai volumenya menjadi setengahnya. Pindahkan sisa tersebut ke dalam labu ukur 100 ml dengan menggunakan air panas sebagai pembilas.

Dinginkan, kemudian ditambahkan air sampai garis batas. Larutan ini kita sebut dengan : Larutan A.

Masukkan 50 ml larutan A ke dalam labu ukur 100 ml. Tambahkan beberapa indikator methyl orange. Kemudian teteskan HCl 4 N ke dalamnya hingga larutan berubah warna menjadi merah. Tambahkan 15 ml HCl 0,1 N kemudian panaskan selama 30 menit dalam penangas air mendidih. Dinginkan secara cepat sampai  $20^{\circ}\text{C}$ , kemudian tambahkan 15 ml NaOH 0,1 N. Tambahkan air sampai garis batas, lalu dikocok agar larutannya homogen. Untuk mencegah terjadinya busa pada pemanasan setelah ditambahkan larutan Schoorl, maka tambahkan 1 ml Isopentanol. Larutan ini kita sebut sebagai : Larutan B.

Untuk penentuan kadar gula pereduksi digunakan larutan A, sedangkan untuk penentuan gula total digunakan larutan B.

Pipet 25 ml larutan yang akan diperiksa, dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Kemudian tambahkan 25 ml larutan luff schoorl. Tambahkan pula beberapa batu didih, lalu panaskan sampai mendidih (2 menit). Pindahkan labu ke atas kasa asbes dan atur apinya sampai tepat berada di bawah kasa (tidak kena kasa). Pasang pendingin balik, lalu direfluks selama 10 menit. Kemudian didinginkan dengan cepat. Selanjutnya masukkan 10 ml KI 30% dan tambahkan pula 25 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  6 N. Titrasi dengan larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N. Bila warna berubah menjadi kuning, tambahkan indikator amyllum 1 ml. Lanjutkan titrasi sampai warna biru tepat berubah putih seperti susu. Membuat juga suatu percobaan blanko dengan menggunakan 25 ml air sebagai pengganti larutan A atau larutan B.

Perhitungan :

Dengan mengetahui selisih antara titrasi blanko dan sampel (jumlah gula), kadar gula total dalam bahan dapat ditentukan dengan melihat pada Tabel Luff Schoorl. Dimana jumlah ml tiosulfat dalam 2,5 g sampel adalah selisih ml blanko dengan sampel X faktor pengenceran. Jumlah ml tiosulfat setara dengan mgram gula reduksi. Jadi kadar gula total dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar gula total} = \frac{\text{mg gula total}}{2,5 \times 1000} \times 100\%$$

#### 5. Kadar Pati (Sudarmadji dkk, 1984)

Menimbang dengan teliti 3 g sampel. Tambahkan 30 ml air dingin, didiamkan selama 1 jam sambil diaduk-aduk. Saring pada kertas saring, kemudian dicuci sehingga volume totalnya menjadi 250 ml. Filtratnya akan mengandung senyawa-senyawa karbohidrat yang larut dalam air, sedangkan senyawa karbohidrat yang tidak larut terdapat dalam filter. Residunya kemudian direfluks dengan 200 ml HCl 2,5% (20 ml HCl BD 1,12 dalam 200 ml H<sub>2</sub>O) selama 2 ½ jam. Dinginkan lalu netralkan campuran tersebut dengan menambahkan larutan NaOH 4 N. Gunakan indikator phenolphthalein 1% selama 5 tetes. Tambahkan air hingga volume mencapai 250 ml (gunakan labu ukur), lalu disaring. Tentukan selanjutnya kadar glukosa menurut metode Luff Schoorl. Kadar pati dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar zat pati} = \frac{0,90 \times 250 \times \text{kadar glukosa}}{25 \text{ mg sampel}} \times 100\%$$



#### **6. Pengukuran pH (Gatut Kristianto, 1998)**

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang terlebih dahulu distandarisasi dengan buffer pH 4 dan 7. Pengukuran pH dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter ke dalam sampel yang telah dilarutkan dalam air dengan perbandingan 2 : 1 dan skala dibaca setelah jarum penunjuk konstan.

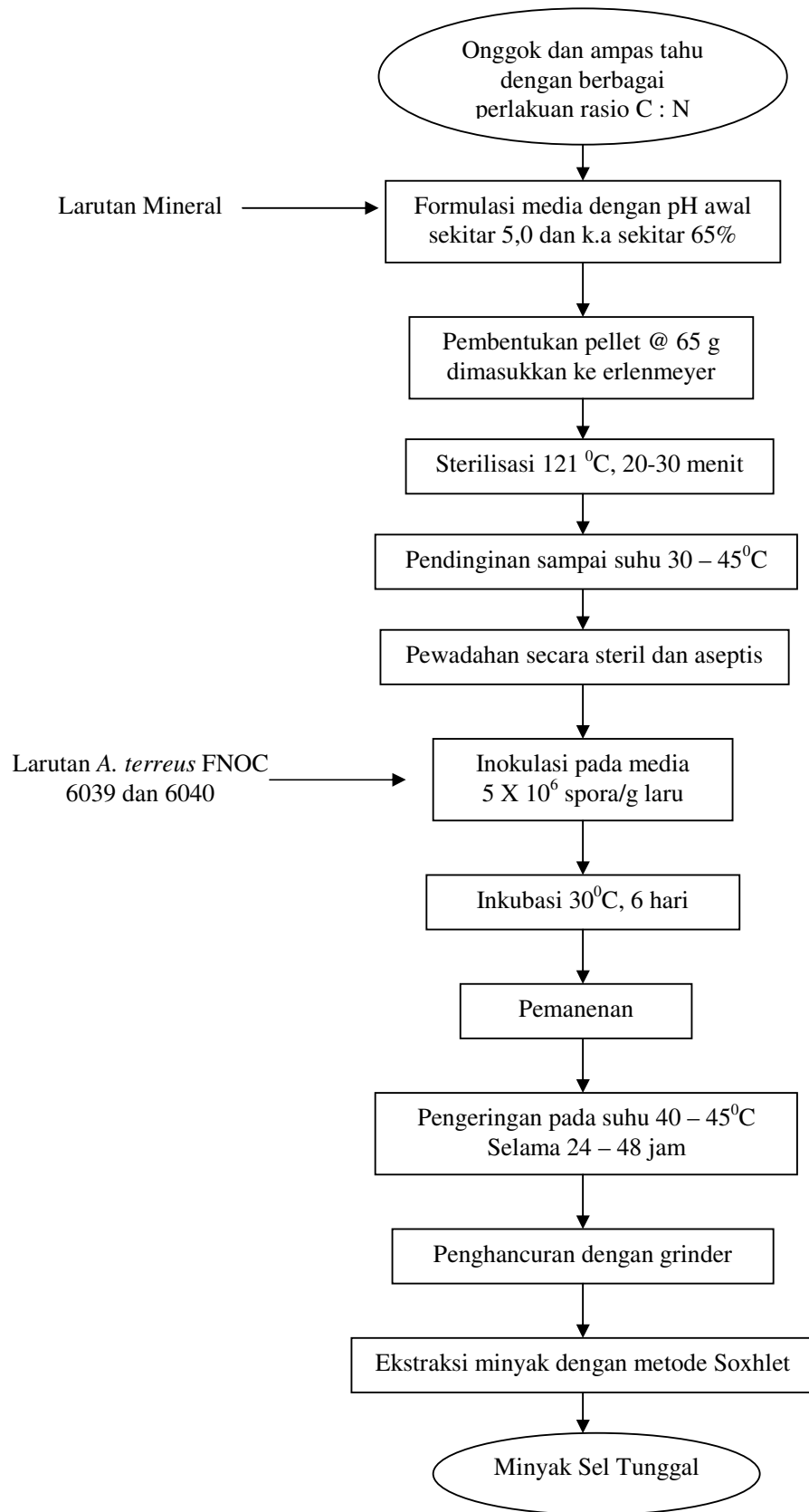
#### **7. Pengukuran Bobot Media/Kehilangan Total Padatan (Nawangsari, 1996)**

Pengukuran bobot media/kehilangan total padatan dilakukan dengan cara menimbang media dalam wadah steril, sebelum dan setelah fermentasi dengan menggunakan timbangan ohaus.

#### **8. Produksi Minyak Sel Tunggal**

Berdasarkan formulasi media campuran onggok-ampas tahu dari rasio C/N yang digunakan, maka media campuran tersebut ditambahkan larutan mineral yang terdiri dari  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  masing-masing sebanyak satu tetes dan kemudian dilakukan pengaturan pH awal menjadi pH 5,0. Selanjutnya ditambahkan air hingga mencapai kadar air sekitar 65% dan dicampur merata lalu dibuat pelet dengan diameter 4 mm menggunakan super grider. Masing-masing media sebanyak 65 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 500 ml, ditutup dengan kapas dan aluminium foil dan sterilkan pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 20 - 30 menit dalam otoklaf.

Selanjutnya setelah dingin (suhu  $\pm 30^0$  C) masing-masing media diinokulasi dengan inokulum bubuk/laru kapang *A. terreus* FNOC 6039 dan FNOC 6040 dengan jumlah spora  $5 \times 10^6$  spora/g laru. Kemudian diinkubasi pada suhu  $30^0$  C selama 6 hari. Pada hari ke-6 dilakukan pemanenan, setelah itu dikeringkan dalam oven pada suhu  $40 - 45^0$  C kemudian dihaluskan. Bahan yang telah halus tersebut lalu diekstraksi dengan metode Soxhlet untuk mendapatkan minyak sel tunggal yang diinginkan. Diagram alir produksi minyak sel tunggal dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 7. Diagram Alir Produksi Minyak Sel Tunggal

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1. Penelitian Utama

#### 5.1.1. Pengamatan Terhadap Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

##### 5.1.1.1. Kadar Air

Uji statistik yang dilakukan terhadap kadar air media onggok-ampas tahu menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* dan rasio C : N tidak memberikan pengaruh yang nyata. Pada uji mandiri, perlakuan strain kapang *A. terreus* tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air media, tetapi sebaliknya perlakuan rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air media. Hasil uji mandiri ditunjukkan pada Tabel 4.

Dari Tabel 4 tampak bahwa strain kapang *A. terreus* tidak berpengaruh terhadap nilai rata-rata kadar air media onggok-ampas tahu. Hal ini ada kaitannya dengan kemampuan strain kapang *A. terreus* dalam melakukan metabolisme secara aerobik yang menghasilkan uap air, dimana kedua strain kapang tersebut sama-sama melakukan proses metabolisme. Menurut Rahman (1989) bahwa proses metabolisme secara aerobik ini, oksidasi terhadap substrat berlangsung sempurna sampai terbentuk CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O.

Perlakuan rasio C : N yang semakin tinggi menghasilkan media onggok-ampas tahu dengan kadar air yang semakin rendah, kecuali rasio C : N = 40 : 1 (r<sub>4</sub>) (seperti terlihat pada Tabel 4). Kadar air tertinggi diperoleh dari perlakuan rasio C : N = 40 : 1 (r<sub>4</sub>) yaitu 74,53%, sedangkan kadar air terendah diperoleh dari perlakuan rasio C : N = 45 : 1 (r<sub>4</sub>) sebesar 65,23%.

Penurunan kadar air setelah fermentasi yang sejalan dengan semakin tingginya rasio C : N karena besarnya rasio C : N dalam media fermentasi berpengaruh terhadap tersedianya oksigen dalam pengendalian laju pertumbuhan dan produksi metabolit (H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub>).

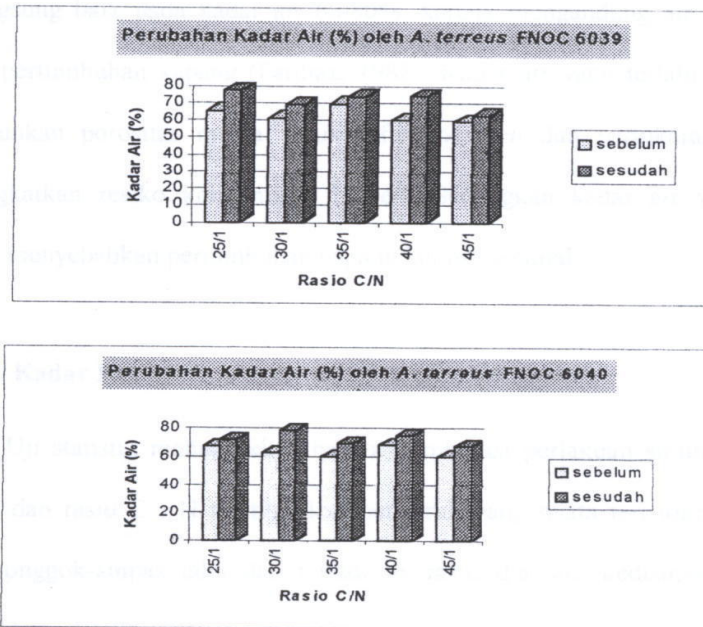
Menurut Sinthia Prideaka Soekarto (1996), konsentrasi karbon yang terlampaui tinggi pada medium dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme karena adanya perbedaan tekanan osmotik yang dapat mengakibatkan plasmolisis dan penghambatan sintesis enzim-enzim pada rantai respirasi. Dengan demikian kemampuan *A. terreus* untuk melakukan metabolisme yang menghasilkan uap air menjadi berkurang.

Tabel 3. Pengaruh Strain Kapang *A. terreus* dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%).

Perlakuan	Rata-rata Nilai Kadar Air (%)	Hasil
S <sub>1</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6039)	71,43	a
S <sub>2</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6040)	72,21	a
r <sub>1</sub> (rasio C : N = 25 : 1)	74,28	a
r <sub>2</sub> (rasio C : N = 30 : 1)	73,65	a
r <sub>3</sub> (rasio C : N = 35 : 1)	71,44	a
r <sub>4</sub> (rasio C : N = 40 : 1)	74,53	a
r <sub>5</sub> (rasio C : N = 45 : 1)	65,23	b

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

Selama fermentasi berlangsung, terjadi perubahan kadar air pada media onggok-ampas tahu. Perubahan kadar air pada media onggok-ampas tahu sebelum dan sesudah fermentasi dapat dilihat dalam Gambar 8.



Gambar 8. Histogram Perubahan kadar Air (%) Media Fermentasi Padat Ongkok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi

Dari Gambar 8 di atas terlihat bahwa setelah fermentasi berlangsung selama 6 hari terjadi peningkatan kadar air. Meningkatnya kadar air selama fermentasi disebabkan karena kapang yang diinokulasikan pada media melakukan metabolisme yang mengeluarkan uap air, sehingga akan mempengaruhi kadar air media setelah fermentasi.

Pada Lampiran 4 terlihat bahwa kadar air media onggok-ampas tahu selama fermentasi berlangsung masih memungkinkan kapang tumbuh dengan baik dan kontaminasi bakteri relatif kecil. Fermentasi substrat padat akan berlangsung baik pada kadar air 60 – 80%, karena mengandung air yang cukup untuk perumbuhan kapang (Fardiaz, 1988). Kadar air yang terlalu tinggi akan menurunkan porositas media untuk difusi oksigen dan pertukaran gas serta meningkatkan resiko kontaminasi bakteri. Sedangkan kadar air yang terlalu rendah menyebabkan pertumbuhan kapang kurang optimal.

### 5.1.1.2. Kadar Pati

Uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan strain kapang *A. terreus* dan rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar pati media onggok-ampas tahu dan terjadi interaksi diantara keduanya. Hasil uji ditunjukkan oleh Tabel 5.

Dari Tabel 5 dapat diketahui bahwa setiap strain kapang *A. terreus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar pati media pada setiap rasio C : N, kecuali pada strain *A. terreus* FNOC 6040 ( $s_2$ ), dimana rasio C : N = 35 : 1 ( $r_3$ ) tidak berbeda nyata dengan rasio C : N = 45 : 1 ( $r_5$ ). Besarnya rasio C : N pada setiap strain kapang *A. terreus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar pati, kecuali pada rasio C : N = 30 : 1 ( $r_2$ ), dimana strain kapang *A. terreus* FNOC 6039 ( $s_1$ ) tidak berbeda nyata dengan FNOC 6040 ( $s_2$ ). Terdapat kecenderungan makin besar rasio C : N makin banyak kadar patinya. Hal ini diduga karena kemampuan kapang *A. terreus* dalam menghidrolisis pati dalam media sangat tergantung pada ketersediaan sumber karbon (C) dan nitrogen (N) serta perbandingan C : N yang sesuai dalam rangka memenuhi kebutuhan metabolisme pertumbuhan sel.

Tabel 4. Pengaruh Strain Kapang *A. terreus* dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%).

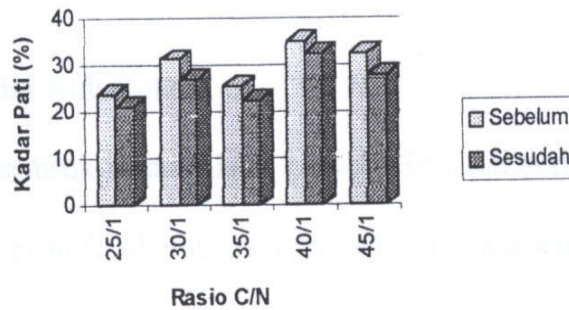
Strain Kapang <i>A. terreus</i>	Rasio C : N Media Onggok-Ampas Tahu				
	$r_1 = 25:1$	$r_2 = 30:1$	$r_3 = 35:1$	$r_4 = 40:1$	$r_5 = 45:1$
$S_1$ (FNOC 6039)	21,22 B (e)	26,86 A (c)	22,54 B (d)	32,30 A (a)	27,86 B (b)
$S_2$ (FNOC 6040)	25,17 A (c)	26,33 A (b)	31,50 A (a)	23,06 B (d)	30,76 A (a)

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf kecil yang sama (arah horizontal) dan huruf besar yang sama (arah vertikal) tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

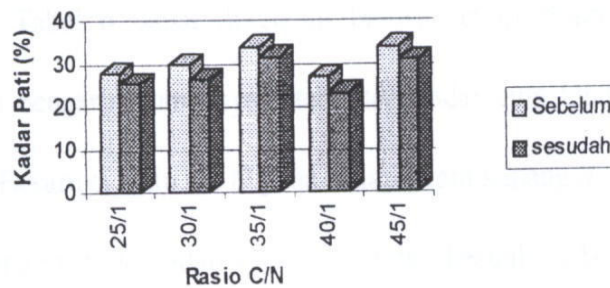
Menurut Srikandi Fardiaz (1988), pertumbuhan kapang pada media membutuhkan energi. Sebagian besar energi tersebut berasal dari perombakan karbohidrat, sebelum komponen yang lain digunakan. Karbohidrat yang pertama kali digunakan adalah gula sederhana (glukosa, fruktosa, galaktosa dan manosa) ataupun oligosakarida (sukrosa, rafinosa dan stakhiosa). Polisakarida misalnya pati juga dirombak oleh kapang. Fermentasi glukosa diawali dengan pemecahan rantai karbon dan pelepasan atom hydrogen menghasilkan senyawa yang teroksidasi (asam piruvat). Selanjutnya senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi oleh hydrogen menghasilkan senyawa hasil fermentasi seperti asam laktat, asam asetat dan etanol.

Perubahan kadar pati selama proses fermentasi dapat menunjukkan jumlah pati yang digunakan oleh kapang untuk pertumbuhannya dan menghasilkan metabolit lain. Perubahan kadar pati media onggok-ampas tahu sebelum dan sesudah fermentasi dapat dilihat pada Gambar 9. Pada gambar tersebut terlihat bahwa penurunan kadar pati terbesar setelah fermentasi terjadi pada media dengan rasio C : N = 30 : 1 yang diinokulasi oleh strain kapang *A. terreus* FNOC 6039 (31,35% menjadi 26,86%), sedangkan penurunan kadar pati terkecil terjadi pada media dengan rasio C : N = 35 : 1 yang diinokulasi oleh strain kapang *A. terreus* FNOC 6040 (33,99% menjadi 31,50%).





**Perubahan Kadar Pati (%) oleh *A. terreus* FNOG 6040**



Gambar 9. Histogram Perubahan Kadar Pati (%) Media Fermentasi Padat Ongkok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi.

Menurut Sutrisno (1987) dalam Helianti (1994) menyatakan bahwa terjadinya penurunan kadar pati menunjukkan berlangsungnya proses hidrolisis pati menjadi gula-gula sederhana oleh enzim pemecah pati yang dihasilkan oleh *A. terreus*. Hal tersebut menunjukkan terjadinya pertumbuhan sel pada fase logaritmik, dimana semua nutrisi digunakan untuk keperluan metabolisme pertumbuhan sel.

Rahman (1992) menyatakan bahwa selama pertumbuhan mikroorganisme *oleoginosa*, yaitu pertumbuhan (pembentukan sel-sel) kapang akan terhenti sampai pada fase awal stasioner. Mulai saat itu konsumsi gula akan dipakai untuk pembentukan metabolit primer, diantaranya adalah biosintesis asam lemak.

### 5.1.1.3. Kadar Gula Total

Uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan strain kapang *A. terreus* dan rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar gula total media onggopas tahu dan terjadi interaksi diantara keduanya. Hasil uji ditunjukkan oleh Tabel 6.

Dari Tabel 6 dapat diketahui bahwa setiap strain kapang *A. terreus* memberikan pengaruh nyata terhadap kadar gula total media pada setiap rasio C : N. Besarnya rasio C : N pada setiap strain kapang *A. terreus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar gula total, kecuali pada rasio C : N = 25 : 1 ( $r_1$ ), dimana strain kapang *A. terreus* FNOG 6039 ( $s_1$ ) tidak berbeda nyata dengan FNOG 6040 ( $s_2$ ). Hal ini diduga karena selama proses fermentasi terjadi pemanfaatan gula oleh kapang *A. terreus* yang merupakan hasil penguraian pati untuk selanjutnya akan dikonversi menjadi lemak/minyak.

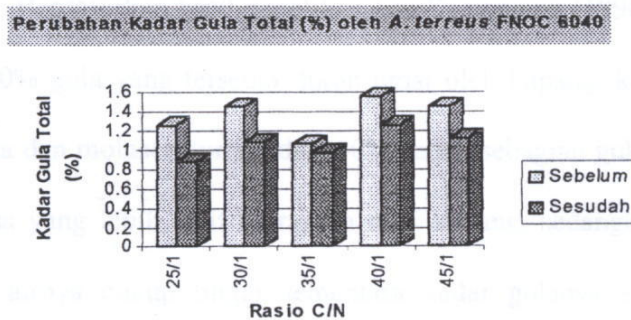
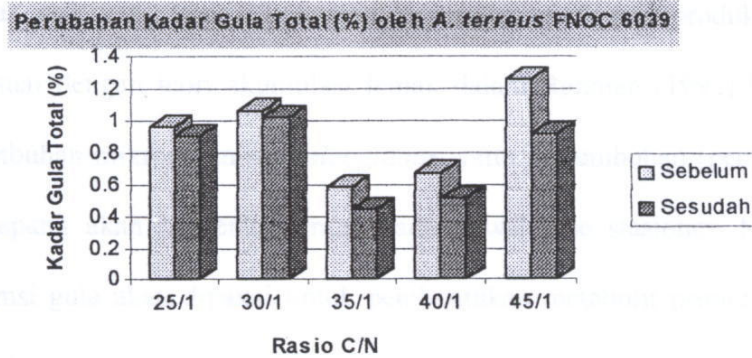
Menurut Sinthia Prideaka Soekarto (1996) bahwa banyaknya konsumsi gula selama pertumbuhan kapang tidak mempengaruhi kadar padatan yang terbentuk, tetapi mempengaruhi akumulasi lemak pada miselium kapang. Bila suplai oksigen dalam medium tidak cukup, maka gula yang dikonsumsi akan dikonversi menjadi alkohol dan bukan miselium atau lemak kapang. Rendahnya konversi gula menjadi miselium kemungkinan karena gula yang dikonsumsi digunakan untuk keperluan pertumbuhan lain yang lebih dibutuhkannya, seperti pembentukan enzim hidrolitik atau metabolit lainnya. Bila dalam medium terdapat lebih dari satu karbon, kapang akan mengkonsumsi gula yang lebih sederhana lebih dahulu, baru kemudian yang lebih kompleks.

Tabel 5. Pengaruh Strain Kapang *A. terreus* dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%).

Strain Kapang <i>A. terreus</i>	Rasio C : N Media Onggok-Ampas Tahu				
	r <sub>1</sub> =25:1	r <sub>2</sub> =30:1	r <sub>3</sub> =35:1	r <sub>4</sub> =40:1	r <sub>5</sub> =45:1
S <sub>1</sub> (FNOC 6039)	0,90 A (b)	1,02 A (a)	0,44 B (d)	0,51 B (a)	0,91 B (b)
S <sub>2</sub> (FNOC 6040)	0,87 A (c)	1,08 A (c)	0,97 A (d)	1,25 A (a)	1,12 A (b)

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf kecil yang sama (arah horizontal) dan huruf besar yang sama (arah vertikal) tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

Dari Gambar 10 terlihat bahwa kadar gula total media onggok-ampas tahu mengalami penurunan setelah 6 hari fermentasi. Penurunan kadar gula terbesar terjadi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 25 : 1 yang diinokulasi oleh kapang *A. terreus* FNOC 6040 (dari 1,25% menjadi 0,87%). Penurunan terkecil terjadi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 30 : 1 yang diinokulasi oleh kapang *A. terreus* FNOC 6039 (dari 1,06% menjadi 1,02%).



Gambar 10. Histogram Perubahan Kadar Gula Total (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi.

Penelitian Sutrisno (1987) dalam Helianti (1994) juga menunjukkan bahwa kadar gula akan meningkat terus sampai mencapai keadaan maksimum dan akhirnya menurun lagi sampai akhir fermentasi. Terjadi peningkatan kadar gula merupakan hasil hidrolisis pati oleh enzim-enzim hidrolase. Peningkatan kadar gula yang nyata sampai hari keempat fermentasi sesuai dengan penurunan kadar pati yang nyata pula.

Menurut Sinthia Prideaka Soekarto (1996), peningkatan kadar gula tidak selalu berarti peningkatan biomassa kapang, karena dalam keadaan nitrogen terbatas, gula yang terus dikonsumsi digunakan untuk memproduksi lemak. Hal ini sesuai dengan teori akumulasi lemak dalam Rahman (1992) bahwa selama pertumbuhan mikroorganisme *oleaginous*, yaitu pertumbuhan (pembentukan sel-sel) kapang akan berhenti sampai pada

awal fase stasioner. Mulai saat itu konsumsi gula akan dipakai untuk pembentukan metabolit primer, diantaranya adalah biosintesis asam lemak.

Berdasarkan hasil penelitian Evi Kuswiyanti (1996), pada umumnya lebih dari 80% gula yang tersedia dikonsumsi oleh kapang, kecuali pada limbah cair tapioka dan molasses kurang dari 50% sebab sebagian gula dalam molasses adalah sukrosa yang lebih sulit diuraikan oleh kapang, sedangkan limbah cair tapioka kadar airnya cukup tinggi sementara kadar gulanya sangat rendah. Menurut Wassef (1977) dalam Evi Kuswiyanti (1996) menyatakan bahwa glukosa adalah jenis gula yang paling efisien untuk diubah menjadi lemak oleh sejumlah kapang.

#### **5.1.1.4. Kadar Protein**

Uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan strain kapang *A. terreus* dan rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein media onggok-ampas tahu dan terjadi interaksi diantara keduanya. Hasil uji ditunjukkan oleh Tabel 7.

Dari Tabel 7 dapat diketahui bahwa setiap strain kapang *A. terreus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein media pada setiap rasio C : N kecuali pada strain *A. terreus* FNOC 6039 ( $s_1$ ), dimana rasio C : N = 30 : 1 ( $r_2$ ) tidak berbeda nyata dengan rasio C : N = 35 : 1 ( $r_3$ ) dan 40 : 1 ( $r_4$ ). Besarnya rasio C : N pada setiap strain kapang *A. terreus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein, kecuali pada rasio C : N = 40 : 1 ( $r_4$ ), dimana strain *A. terreus* FNOC 6039 ( $s_1$ ) tidak berbeda nyata dengan FNOC 6040 ( $s_2$ ). Hal ini diduga karena strain kapang *A. terreus* mempunyai kemampuan yang tinggi untuk merombak sumber nitrogen yang ada menjadi protein pada medium onggok-ampas tahu.

Menurut Rahman (1992), apabila nitrogen telah habis dalam medium fermentasi, maka karbon yang berlebih tersebut akan terus dikonsumsi oleh mikroorganisme

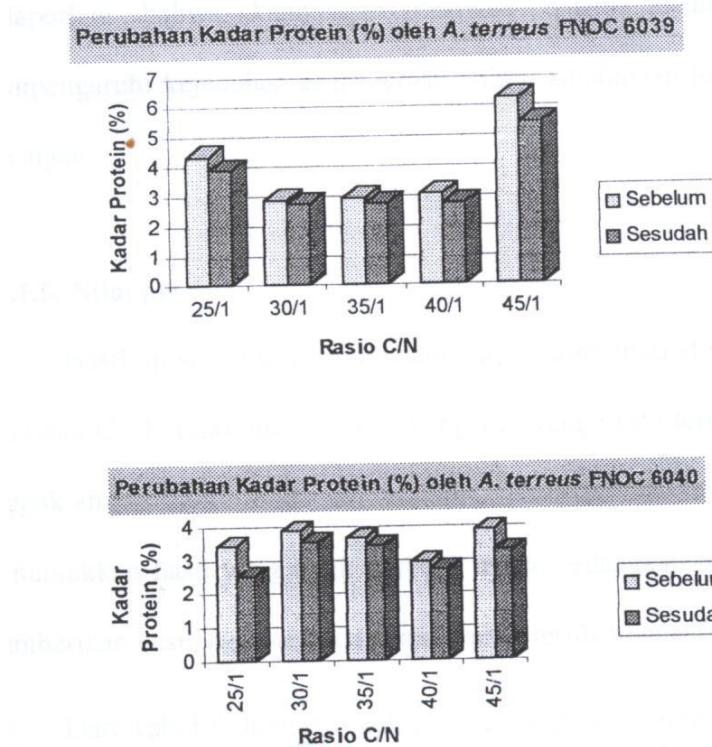
*oleaginous* dan akhirnya karbon tersebut dikonversi menjadi lemak. Dengan demikian tingginya kadar protein pada media onggok-ampas tahu tentunya akan mempengaruhi pertumbuhan sel kapang dan pembentukan miselium kapang sehingga akan berpengaruh besar pada proses akumulasi lemak kapang.

Tabel 6. Pengaruh Strain Kapang *A. terreus* dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%).

Strain Kapang <i>A. terreus</i>	Rasio C : N Media Onggok-Ampas Tahu				
	r <sub>1</sub> =25:1	r <sub>2</sub> =30:1	r <sub>3</sub> =35:1	r <sub>4</sub> =40:1	r <sub>5</sub> =45:1
S <sub>1</sub> (FNOC 6039)	3,85 A (b)	2,72 B (c)	2,75 B (c)	2,73 A (c)	5,47 A (a)
S <sub>2</sub> (FNOC 6040)	2,53 B (e)	3,56 A (c)	3,43 A (b)	2,71 A (d)	3,25 B (c)

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf kecil yang sama (arah horizontal) dan huruf besar yang sama (arah vertikal) tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

Dari Gambar 11 terlihat bahwa kadar protein media onggok-ampas tahu juga mengalami penurunan seperti halnya kadar pati dan gula total setelah 6 hari fermentasi. Penurunan kadar protein terbesar terjadi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 45 : 1 yang diinokulasi oleh kapang *A. terreus* FNOC 6039 (dari 6,26% menjadi 5,47%). Penurunan kadar protein terkecil terjadi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 35 : 1 yang diinokulasi oleh kapang *A. terreus* FNOC 6039 (dari 2,96% menjadi 2,75%).



Gambar 11. Histogram Perubahan Kadar Protein (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi.

Penurunan kadar protein media onggok-ampas tahu setelah mengalami proses fermentasi selama 6 hari disebabkan karena terjadi pemecahan atau penguraian komponen protein dalam medium, yang akan diubah menjadi energi bagi pertumbuhan kapang, untuk pembentukan miselium dan akumulasi lemak kapang.

Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa kadar protein dari suatu media setelah fermentasi sangat dipengaruhi oleh besarnya rasio C : N pada media pertumbuhannya dan juga dipengaruhi oleh kemampuan tiap spesies kapang untuk merombak nitrogen yang ada menjadi protein. Bajpai dan Bajpai (1993) melaporkan bahwa kandungan nitrogen dalam media fermentasi akan mempengaruhi kejenuhan asam lemak dalam kandungan lemak bakteri, kapang dan algae.

#### 5.1.1.5. Nilai pH

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi strain kapang *A. terreus* dan rasio C : N tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai pH media onggok-ampas tahu. Pada uji mandiri, perlakuan strain kapang *A. terreus* menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, sedangkan perlakuan rasio C : N memberikan hasil yang berbeda nyata seperti terlihat pada Tabel 8.

Dari Tabel 8 diketahui bahwa strain kapang *A. terreus* tidak berpengaruh terhadap nilai rata-rata pH media onggok-ampas tahu. Hal ini ada kaitannya dengan aktivitas strain kapang *A. terreus* selama fermentasi, yaitu dengan adanya pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan atom hydrogen yang pada akhirnya menghasilkan asam-asam organik..

Dari Tabel 8 diketahui pula bahwa rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai pH media onggok-ampas tahu. Penurunan nilai pH yang sejalan dengan semakin besarnya rasio C : N karena adanya aktivitas mikroorganisme dalam mengkonsumsi nitrogen. Wang dan Hesseltine (1979) dalam Henialti (1994) menyatakan bahwa setiap pengikatan satu ion  $\text{NH}_4^+$  oleh kerangka karbon atau gugus R akan dilepaskan satu ion  $\text{H}^+$  ke lingkungan pH medium.

Hal ini terjadi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 45/1, dimana kandungan karbonnya tinggi sehingga mampu mengikat ion-ion  $\text{NH}_4^+$  lalu melepaskan ion  $\text{H}^+$  ke lingkungan, akibatnya pH medium turun (menjadi asam). Selain itu penurunan nilai pH terjadi karena terbentuknya asam-asam organik seperti asam piruvat, asam laktat dan asam asetat selama proses fermentasi. Asam-asam tersebut dihasilkan dari pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan atom hidrogen.

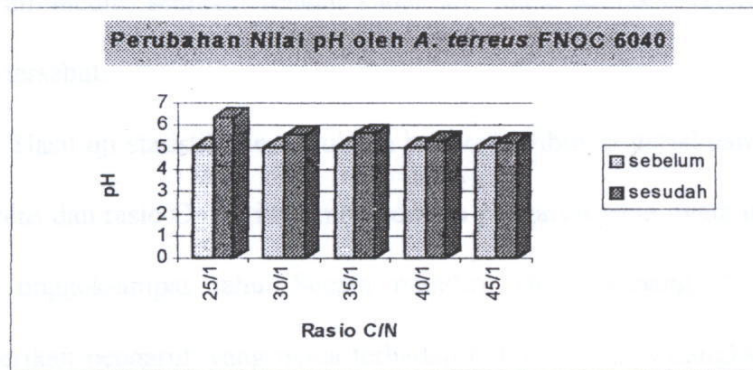
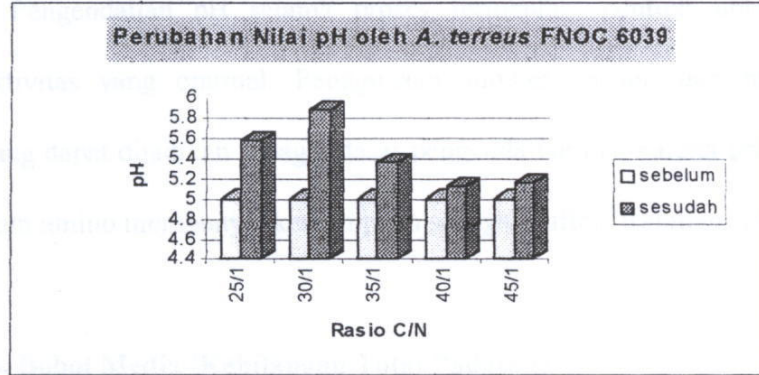


Tabel 7. Pengaruh Strain Kapang *A. terreus* dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%).

Perlakuan	Rata-rata Nilai pH	Hasil
S <sub>1</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6039)	5,42	a
S <sub>2</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6040)	5,61	a
r <sub>1</sub> (rasio C : N = 25 : 1)	5,96	a
r <sub>2</sub> (rasio C : N = 30 : 1)	5,72	a
r <sub>3</sub> (rasio C : N = 35 : 1)	5,50	ab
r <sub>4</sub> (rasio C : N = 40 : 1)	5,21	b
r <sub>5</sub> (rasio C : N = 45 : 1)	5,19	b

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

Selain terjadi perubahan kadar air, terjadi juga perubahan p media onggok-ampas tahu selama fermentasi. Nilai pH awal media onggok-ampas tahu sebelum fermentasi untuk tiap perlakuan adalah 5,0 dan setelah difermentasi selama 6 hari nilai pH cenderung naik berkisar antara 5,12 hingga 6,33. Nilai pH media onggok-ampas tahu setelah fermentasi dari tiap perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 9. Perubahan nilai pH media fermentasi padat onggok-ampas tahu sebelum dan sesudah fermentasi dapat dilihat pada Gambar 12 di bawah ini :



Gambar 12. Histogram Perubahan Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi.

Menurut Cochrane (1965) bahwa perubahan pH substrat dipengaruhi oleh aktivitas metabolisme kapang. Pada tahap awal pertumbuhannya, kapang menghasilkan senyawa-senyawa asam sebagai metabolik utama. Senyawa-senyawa asam dalam media fermentasi menyebabkan penurunan pH media, tetapi selanjutnya asam-asam ini digunakan oleh kapang untuk keperluan pertumbuhannya, sehingga pH media meningkat.

Pengendalian pH selama proses fermentasi penting untuk mencapai produktivitas yang optimal. Penggunaan sumber karbon dan nitrogen yang seimbang dapat dijadikan

sebagai dasar pengendalian pH, karena protein, peptide dan asam amino mempunyai kemampuan sebagai buffer (Rahman, 1989).

#### **5.1.1.6. Bobot Media (Kehilangan Total Padatan)**

Bobot media onggok-ampas tahu yang diperoleh berbanding lurus dengan kadar air media, semakin rendah kadar air, maka semakin rendah pula bobot media tersebut.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan strain kapang *A. terreus* dan rasio C : N tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot media onggok-ampas tahu. Secara mandiri, strain kapang *A. terreus* tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot media, sedangkan rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot media. Hasil pengujian sebagaimana terlihat pada Tabel 9.

Tabel 9 memperlihatkan bahwa perlakuan strain kapang *A. terreus* tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot media. Hal ini berhubungan dengan adanya aktivitas metabolisme strain kapang *A. terreus* yang mengeluarkan uap air, sehingga nilai rata-rata bobot media tidak berbeda nyata.

Perlakuan rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot media onggok-ampas tahu, seperti terlihat pada Tabel 9. Bobot media terendah dihasilkan oleh perlakuan rasio C : N = 40 : 1 ( $r_4$ ), yaitu 188,53 g dan berbeda nyata dengan rasio C : N = 25 : 1 ( $r_1$ ) dan 30 : 1 ( $r_2$ ).

Tabel 8. Pengaruh Strain Kapang *A. terreus* dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Bobot Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%).

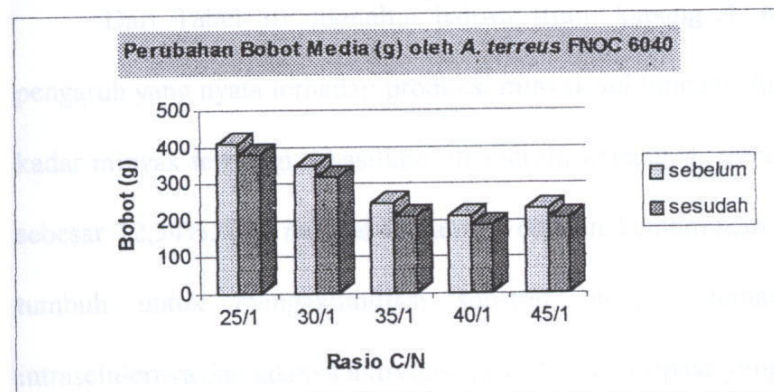
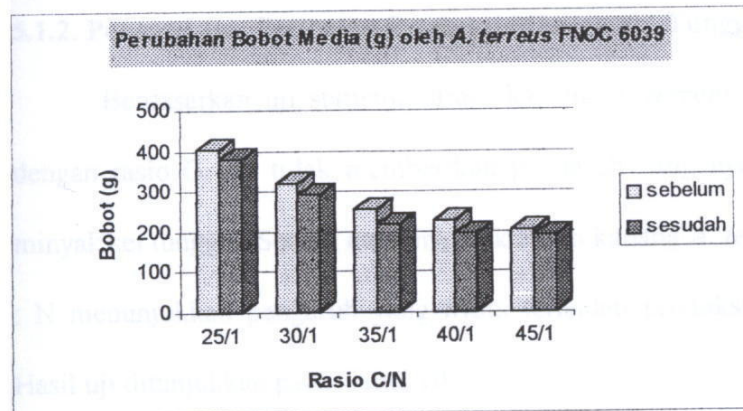
Perlakuan	Rata-rata Nilai pH	Hasil
S <sub>1</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6039)	254,02	a
S <sub>2</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6040)	257,36	a
r <sub>1</sub> (rasio C : N = 25 : 1)	377,30	a
r <sub>2</sub> (rasio C : N = 30 : 1)	303,55	b
r <sub>3</sub> (rasio C : N = 35 : 1)	213,43	c
r <sub>4</sub> (rasio C : N = 40 : 1)	188,53	c
r <sub>5</sub> (rasio C : N = 45 : 1)	195,64	c

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

Penurunan bobot media yang sejalan dengan peningkatan rasio C : N diduga karena hal ini sangat berhubungan dengan kadar air media fermentasi padat onggok-ampas tahu setelah fermentasi. Pada Tabel 4 terlihat rasio C : N = 45 : 1 mempunyai nilai rata-rata kadar air yang paling rendah dibandingkan dengan nilai rata-rata kadar air rasio C : N lainnya.

Selain itu pula ketersediaan sumber karbon yang tinggi juga akan berpengaruh terhadap produksi metabolit (H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub>) dan laju pertumbuhan. Dengan demikian semakin rendah kadar air media maka tentunya semakin kecil bobot media tersebut.

Media fermentasi padat onggok-ampas tahu cenderung mengalami penurunan bobot (kehilangan total padatan) selama proses fermentasi. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 13 dibawah ini :



Gambar 13. Histogram Perubahan Bobot (g) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi.

Dari gambar di atas terlihat bahwa setelah fermentasi berlangsung selama 6 hari terjadi penurunan bobot media onggok-ampas tahu. Penurunan bobot media onggok-ampas tahu pada akhir fermentasi disebabkan karena telah melewati fase stasioner dimana persediaan nutrisi dalam substrat menjadi berkurang sebab telah dipergunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Akibatnya bobot media fermentasi lama kelamaan akan berkurang terus sejalan dengan peningkatan konsumsi nutrisi dan penurunan produksi metabolit ( $H_2O$  dan  $CO_2$ ).

### 5.1.2. Pengamatan Terhadap Produksi Minyak Sel Tunggal

Berdasarkan uji statistik, strain kapang *A. terreus* yang dikombinasikan dengan rasio C : N tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi minyak sel tunggal. Secara mandiri, baik strain kapang *A. terreus* maupun rasio C : N menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap produksi minyak sel tunggal. Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 10.

Dari Tabel 10 diketahui bahwa strain kapang *A. terreus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi minyak sel tunggal. Adapun nilai rata-rata kadar minyak tertinggi dihasilkan oleh strain kapang *A. terreus* FNOC 6040 ( $s_2$ ) sebesar 12,34%. Hal ini erat kaitannya dengan kemampuan strain kapang yang tumbuh untuk mengakumulasi substrat menjadi lemak dalam jaringan intraselulernya dan adanya aktivitas spesifik enzim lipase yang dimilikinya. Strain kapang *A. terreus* FNOC 6040 ( $s_2$ ) diduga mempunyai kemampuan yang tinggi dalam mengkonversi sumber C dan N yang tersedia menjadi minyak sel tunggal, dibandingkan strain kapang *A. terreus* 6039 ( $s_1$ ).

Tabel 10 juga menunjukkan bahwa rasio C : N memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi minyak sel tunggal. Diketahui bahwa semakin besar rasio C : N yang digunakan, semakin besar pula nilai rata-rata kadar lemak yang dihasilkan, kecuali perlakuan rasio C : N = 35 : 1 (sebesar 8,65%).

Tabel 9. Pengaruh Strain Kapang *A. terreus* dan Rasio C : N Pada Produksi Minyak Sel Tunggal Terhadap Kadar Lemak/Minyak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%).

Perlakuan	Rata-rata Nilai pH	Hasil
S <sub>1</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6039)	7,79	b
S <sub>2</sub> ( <i>A.terreus</i> FNOC 6040)	12,34	a
r <sub>1</sub> (rasio C : N = 25 : 1)	9,08	cd
r <sub>2</sub> (rasio C : N = 30 : 1)	9,80	bc
r <sub>3</sub> (rasio C : N = 35 : 1)	8,65	d
r <sub>4</sub> (rasio C : N = 40 : 1)	10,76	b
r <sub>5</sub> (rasio C : N = 45 : 1)	12,04	a

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

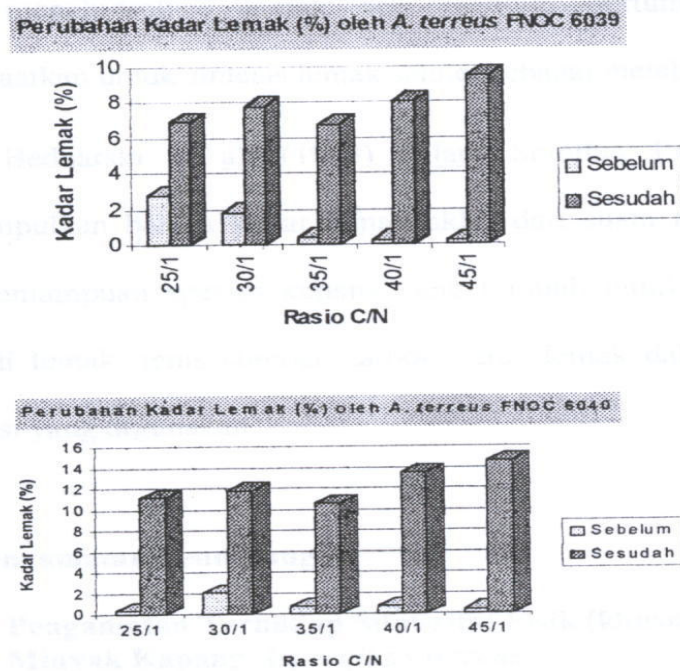
Kadar minyak terendah sebesar 8,65% diperoleh dari rasio C : N = 35 : 1 (r<sub>3</sub>), sedangkan kadar minyak tertinggi sebesar 12,04% diperoleh dari rasio C : N = 45 : 1 (r<sub>5</sub>). Hal ini diduga karena rasio C : N yang tinggi dalam media berarti ketersediaan sumber karbon dan nitrogen lebih banyak dan aktivitas spesifik lipase pun semakin besar sehingga dapat mendukung pertumbuhan sel kapang, metabolisme dan dapat meningkatkan kemampuan kultur kapang untuk mengakumulasi lemak intraselulernya.

Selama metabolisme berlangsung, sumber C yang tersedia merupakan bentuk simpan yang ideal untuk surplus energi metabolik. Selanjtnya bersama sitrat, Co-A dan ATP (sitrat liase) membentuk asetil Co-A, oxaloasetat dan ADP + Pi. Dengan bantuan asetil Co-A karboxilase kemudian membentuk malonil Co-A yang menghasilkan asam lemak kompleks dan lemak.

Menurut Rahman (1992), akumulasi lemak yang terjadi pada mikroorganisme *oleaginous* mengikuti pola 2 tahap yaitu tahap pertama ialah perkembangbiakan sel dengan laju maksimum yang berlangsung terus sampai nutrien selain karbon, biasanya nitrogen telah habis dalam medium. Kemudian karbon yang berlebih ersebut akan terus dikonsumsi oleh mikroorganisme *oleaginous* dan pada akhirnya karbon tersebut

dikonversi menjadi lemak. Rasio C : N yang optimum untuk pertumbuhan kapang dan produksi lemak adalah 65/1 dan 80/1 (Wassef, 1975).

Pada Gambar 14 memperlihatkan perubahan kadar lemak/minyak pada media onggok-ampas tahu sebelum dan sesudah fermentasi. Terlihat bahwa terjadi peningkatan kadar lemak/minyak setelah 6 hari fermentasi. Peningkatan kadar lemak/minyak tertinggi terdapat pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 45 : 1 yang diinokulasi oleh kapang *A. terreus* FNOG 6040 sebesar 14,25% (dari 0,38% menjadi 14,63%).



Gambar 14. Histogram Perubahan Kadar Lemak (%) Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum dan Sesudah Fermentasi.

Efektivitas penggunaan jenis-jenis sumber karbon dan nitrogen dalam medium pertumbuhan mikroorganisme sangat tergantung pada galur yang ditumbuhkan, terutama individu yang berperan adalah kapang (Bajpai dan Bajpai, 1993).



Dari penelitian ini terlihat bahwa kadar lemak media awal tidak berpengaruh besar terhadap kadar lemak akhir. Seperti pada media onggok-ampas tahu yang memiliki kadar lemak awal lebih rendah, tetapi dapat menghasilkan kadar lemak lebih tinggi terutama setelah difermentasi oleh kapang *A. terreus* FNOG 6040. Hal ini menunjukkan bahwa kapang *A. terreus* FNOG 6040 mempunyai kemampuan lebih dalam memanfaatkan sumber karbon dan nitrogen, dapat menghidrolisis lemak dan medium pertumbuhan dan selanjutnya dimanfaatkan untuk sintesis lemak seluler sebagai metabolit primernya.

Bednarski et al 1993) dalam Shinthia Prideaka Soekarto (1996) menyimpulkan bahwa kadar lemak akhir dari suatu media sangat dipengaruhi oleh kemampuan spesies kapang yang tumbuh untuk mengakumulasi substrat menjadi lemak, jenis sumber karbon, jenis lemak dalam medium dan metode kultivasi yang digunakan.

## **5.2. Pengamatan Penunjang**

### **5.2.1. Pengamatan Terhadap Sifat-sifat Fisik (khususnya warna dan bau) Minyak Kapang *Aspergillus terreus***

Pada media fermentasi padat onggok-ampas tahu yang diinkubasi dalam kotak plastic yang kemudian diletakkan dalam incubator pada suhu 30<sup>0</sup>C, pertumbuhan kapang *A. terreus* mulai menyebar rata di permukaan media pada hari ke-3 dengan sporanya yang berwarna kuning sampai coklat. Pada hari ke-5 fermentasi, di dasar kotak plastic warna media menjadi lebih kuning dari pada sebelum fermentasi dan disertai pula munculnya titik-titik minyak yang berwarna kuning pada permukaan media. Hal ini lebih jelas terlihat pada media onggok-ampas tahu yang diinokulasi dengan *A. terreus* FNOG 6039.

Adapun minyak kapang *A. terreus* yang dihasilkan melalui proses ekstraksi Soxhlet berwarna kuning kecoklatan, seperti terlihat pada Lampiran 13. Menurut Ketaren (1986), warna kuning ini disebabkan oleh pigmen karotenoid yang terdiri dari

alfa dan beta karoten yang merupakan zat warna alamiah yang terdapat dalam bahan yang mengandung minyak dan ikut terekstrak bersama minyak pada proses ekstraksi. Warna kuning kecoklatan tersebut juga disebabkan oleh karotenoid yang bersifat larut dalam minyak dan terdapatnya sejumlah persenyawaan nitrogen yang berkombinasi secara kimia dengan minyak. Karotenoid merupakan persenyawaan hidrokarbon tidak jenuh yang bersifat tidak stabil pada suhu tinggi, dan jika minyak dialiri uap panas, maka warna kuning akan hilang.

Minyak kapang *A. terreus* yang dihasilkan berbau amis (*fishy flavor*) yang disebabkan oleh interaksi trimetil-amin oksida ( $\text{NMe}_3$ ) dengan ikatan rangkap dari lemak tidak jenuh. Trimetil-amin oksida terbentuk akibat oksidasi trimetil-amin oleh peroksida (Ketaren, 1986).

### **5.2.2. Pertumbuhan Kapang *Aspergillus terreus***

Pada media agar miring PADA, kapang *Aspergillus terreus* dapat mencapai pertumbuhan optimum setelah 3 – 5 hari inkubasi pada suhu ruang ( $27 - 30^{\circ}\text{C}$ ). Panjang miselium *A. terreus* FNOC 6039 dan FNOC 6040 tidak sama, dimana *A. terreus* FNOC 6039 mempunyai miselium yang lebih panjang dari pada *A. terreus* FNOC 6040. Panjang miseliumnya paling tinggi sekitar 0,5 cm. Pertumbuhan miselium kapang dapat mencapai 4 cm, bila ruang hidupnya tidak terbatas (Zhyca dan Siepmann, 1969 dalam Rita Utari, 1997), Pertumbuhan *A. Terreus* FNOC 6039 lebih cepat dari pada FNOC 6040.

Ukuran spora *A. terreus* bervariasi tetapi bentuknya hampir sama, yaitu bulat atau oval tidak beraturan. Spora aseksualnya diproduksi dalam jumlah banyak yang menyebar di permukaan media agar, koloninya kompak serta tahan terhadap keadaan

kering. Kumpulan spora *A. terreus* FNOG 6039 berwarna coklat krem, sedangkan strain FNOG 6040 sporanya berwarna coklat kekuningan.

Dari pengamatan dibawah mikroskop (Gambar 2), morfologi umum kapang *A. terreus* adalah sel kakinya tidak begitu jelas terlihat, konidianya pun membentuk rantai yang berwarna krem kehijauan. Ciri-ciri spesifik kapang tersebut sesuai dengan morfologi kapang yang dikemukakan oleh Srikandi Fardiaz (1992).

Tujuan dari pemeriksaan kemurnian kapang adalah untuk mengetahui kesesuaian identitas kapang sehingga tingkat kemurnian dan jenis kapang yang digunakan dalam penelitian ini dapat dipertanggungjawabkan. Gambar 3 dan 4 merupakan hasil pemotretan mikroskopik kapang *A. terreus* FNOG 6039 dan FNOG 6040 yang digunakan dalam penelitian ini.

### 5.2.3. Analisis Bahan Dasar Media Fermentasi

Pada formulasi media pertumbuhan kapang, perlu diketahui ketersediaan sumber karbon (C) dan nitrogen (N) dari komponen bahan dasar media fermentasi tersebut. Hasil analisis kandungan karbon dan nitrogen bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini tercantum pada Tabel 11 dibawah ini :

Table 10. Kandungan Karbon (C) dan Nitrogen (N) Bahan Dasar Onggok dan Ampas Tahu

Bahan Dasar	Kadar C (g/100 g)	Kadar N (g/100 g)
Onggok	41,71	0,88
Ampas Tahu	40,87	2,52

Dari hasil analisis proksimat limbah diketahui bahwa dalam limbah padat onggok terdapat kandungan karbon yang tinggi dan kandungan nitrogen yang rendah, sebaliknya dalam limbah padat ampas tahu terdapat kandungan karbon yang lebih rendah dari

onggok dan sebaliknya kandungan nitrogennya yang lebih tinggi dari onggok. Perbandingan karbon dan nitrogen (C : N) pada onggok sebesar 47,40 sehingga onggok dapat dijadikan sumber C pada media pertumbuhan kapang. Sedangkan pada ampas tahu perbandingan C : N sebesar 16,22. Oleh sebab itu ampas tahu lebih potensial digunakan sebagai sumber nitrogen.

Ampas tahu sebenarnya mengandung karbohidrat yang cukup tinggi tetapi sebagian besar berupa pati dan serat kasar yang lebih sulit oleh mikroorganisme bila digunakan sebagai sumber karbon (Rita Utari, 1997). Hasil analisis proksimat bahan dasar tercantum pada Tabel 12.

Tabel 11. Analisa Proksimat Bahan Dasar Onggok dan Ampas Tahu (%bb)

Komponen	Onggok	Ampas Tahu
Air	6,75	13,83
Protein	5,51	15,75
Lemak	2,54	12,10
Karbohidrat	84,11	54,96
Abu	1,09	3,36

Kapang sangat membutuhkan senyawa C dalam jumlah yang cukup, yang akan dipecah untuk menghasilkan energi bagi aktivitas penyusunan komponen sel dan pembentukan metabolit. Dalam pertumbuhannya kapang membutuhkan unsure N yang cukup karena N diperlukan untuk sintesis protein. Keuntungan dari penggunaan ampas tahu sebagai media selain sebagai penyedia N, juga merupakan sumber factor pertumbuhan (*growth factor*), karena terdapat berbagai asam amino dalam ampas tahu. Rahman (1989) menyatakan bahwa komponen media fermentasi harus memenuhi kebutuhan dasar untuk pembentukan biomassa dan produk fermentasi serta dapat menyediakan energi yang cukup untuk biosintesis dan pemeliharaan sel.

Penggunaan sumber C dan N alami dari limbah lebih menguntungkan dari medium sintetik, karena sumber nutrisi ini mengandung semua atau beberapa vitamin yang dibutuhkan oleh kapang (Ahman, 1989). Selain itu pula komponen penyusunnya yang relatif lebih murni dan juga dapat menekan biaya produksi.

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan data dan pembahasan dengan uji statistic yang dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Penggunaan strain kapang *Aspergillus terreus* dan rasio C : N dari media onggok-ampas tahu secara serempak tidak berpengaruh nyata terhadap produksi minyak sel tunggal, tetapi secara serempak berpengaruh nyata terhadap kadar pati, kadar gula total dan kadar protein media onggok-ampas tahu.
2. Strain kapang *A. terreus* yang paling berpotensi untuk memproduksi minyak sel tunggal adalah FNOC 6040 dengan nilai rata-rata kadar minyak sebesar 12,34%.
3. Rasio C : N yang paling baik untuk produksi minyak sel tunggal adalah rasio C : N = 45 : 1 dengan nilai rata-rata kadar minyak sebesar 12,04%.

### 6.2. Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian terhadap kualitas, toksisitas dan komposisi asam lemak dari minyak sel tunggal yang dihasilkan. Pengujian tersebut untuk mengetahui sifat-sifat minyak sel tunggal tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N. 1986. *Aktivitas Enzim Alfa-Galaktosidase dari Kapang Oncom. Pada Substrat Limbah Padat Pertanian*. Skripsi. FATETA, IPB. Bogor.
- Anonim. 1988. *Laporan Penelitian Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Balai Penelitian dan Pengembangan Industri. Semarang.
- \_\_\_\_\_. 1992. *Enzym Nomenclature 1992. Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on Nomenclature and Classification on Enzymes*. Academic Press. Inc. San Diego.
- Bajpai, P. dan Bajpai, P.K. 1993. *Eicosapentaenoic Acid (EPA) Production from Microorganism : a review*. *Journal of Biotechnology*, 30 (1993) : 161 – 183.
- Birch. G.G., Porker, K.J. and Worga, J.T. 1976. *Food From Waste*. Applied Science Pubs. Ltd London.
- Betty D. Sofiah, Abdul Rivai da Debby M. Sumanti. 1998. *Diktat Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. Jurusan Teknologi Pertanian Faperta UNPAD. Jatinangor.
- Boulton, C.A. 1985. *The Biotechnology of Microbial Oil and Fats*. *Industrial Biotechnology*. Vol. 40 No. 5.
- Brogstrom, B dan Brockman, H.L. 1984. *The Lipases*. Plenum Press New York.
- Bull, M.J. 1983. *Progress in Industrial Microbiology*. Elsevier Sci. Publ. Co. Amsterdam Oxford. New York.
- Chalal, D.S. 1985. *Solid State Fermentation with Trichoderma reesei*. *Application Environ. Microbiol.* 49(I) : 205 – 210.
- Ciptadi, W. 1982. *Telaah Pembuatan Sirup Glukosa dan Sifat Limbah Cairnya Dengan Bahan Ubi Kayu Secara Hidrolisa Asam Dalam Rangka Meningkatkan Teknik Pengolahannya*. Thesis IPB. Bogor.
- Cochrane, V.W. 1965. *Physiology of Fungi*. John Wiley and Sons Inc. New York.
- Deanne. 1994. *Produksi Pigmen Angkak oleh Monascus purpureus Pada Campuran Limbah Cair Tahu dan Dedak*. Skripsi FATETA, IPB. Bogor.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan Bharata*. Jakarta.

- Desnulle, P. 1972. *The Lipases*. Di dalam "The Enzymes". Academic Press. New York.
- Djuhana Wati. 1995. *Seleksi Kapang Rhizopus dan Optimasi pH Serta Suhu Untuk Produksi Minyak*. Skripsi FATETA, IPB. Bogor.
- Evans, C.A. and Ratledge, C. 1985. *A. Comparison of The Oleoginuous Yeast, Candada curvata, Grown on Different Carbon Sources a Continous and Batch Culture*. Lipids Vol. 18, No. 9.
- Evi Kuswiyanti. 1996. *Penggunaan Limbah Industri Pertanian Sebagai Sumber C dan Pengaruh Mineral Serta Waktu Inkubasi Terhadap Produksi Asam Gamma Linolenat dari Kapang Mucor inaequisporus M0511/4*. Skripsi. FATETA. IPB. Bogor.
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. PAU-IPB. Bogor.
- \_\_\_\_\_. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor bekerja sama dengan P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Frazier, W.C. 1958. *Food Microbiology*. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York Toronto London.
- Frost, G.M. and D.A. Moss. 1987. *Production of Enzym by Fermentation*. Biotechnology Vol. 79 VHC. Germany.
- Gaspersz. 1994. *Metode Perancangan Percobaan Untuk Ilmu-Ilmu Pertanian, Ilmu-Ilmu Teknik dan Biologi*. Penerbit Armico. Bandung.
- Gatut Kristianto. 1998. *Pengaruh Jenis Inokulum dan Suhu Fermentasi Terhadap Aktivitas Enzim - Glukosidase Pada Tempe*. Skripsi. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian, UNPAD. Jatinangor.
- Hansson, L., . Dostalek dan B. Sorenby. 1989. *Production of GLA by The Fungus Mucor rouxii in Fed-Batch and Continuous Culture*. Appl. Microbiol. Biotechnol 31 : 223 – 227.
- Helianti. 1994. *Pemanfaatan Ampas Tahu, Onggok dan Dedak Untuk Produksi Pigmen Angkak oleh Monascus purpureus BC 88202 dengan Sistem fermentasi Padat*. Skripsi. FATETA, IPB. Bogor.
- Jenie, B.S.L. dan F. Fachda. 1991. *Pemanfaatan Onggok dan Dedak Padi Untuk Produksi Pigmen Angkak oleh Monascus purpureus*. Pertemuan Ilmiah Tahunan, Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bogor.
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Kyle, D.J. dan Ratledge, C. 1992. *Industrial Aplication of Single Cell Oils*. P.G.I. American Oil Chemists Society Champaign, Illinois.



- Liang, O.B., Buchanan dan D. Fardiaz. 1992. *Development of Food Science and Technology*. Proceeding of Asean Food Conference. Jakarta.
- Linberg, A.M. dan L. Hansson. 1991. *Production of Gamma Linolenic Acid by Fungus *Mucor rouxii* on Cheap Nitrogen and Carbon Sources*. Appl. Microbiol Biotech. 36 : 26 – 28.
- Macrae, A.R. 1983. *Lipase Catalyzed Interesterification of Oil and Fats*. J. Am. Oil. Soc. 60 (2) : 243 – 246.
- Nagai S. 1979. *Control of Solid State Cultivation*, Proc. GIAM-V Bangkok.
- Nawangsari, R.T. 1996. *Penggunaan Berbagai Sumber Karbon dan Produksi Minyak Sel Tunggal Oleh Kapang *Mucor inaequisporus* M05II/4*. Skripsi. Fakultas Teknologi Hasil Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Nuraida, L., N.L. Puspitasari-Nienaber, Winarno, G.A. Swandoko dan F. Kusnandar. 1995. *Produksi Asam Gamma Linolenat oleh Kapang *Mucor**. Buletin Teknologi Industri Pangan. 6 (3) : 66 – 73.
- Nuraida, L., S.P. Sukarto dan N. Andarwulan. 1996. *Produksi Minyak Mengandung Asam Gamma Linolenat Oleh Kapang *M. inaequisporus* M05II/4 Dengan Berbagai Sumber Nitrogen*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan I (1) : 17 - 25.
- Nuraida, L. 1997. *Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian Sebagai Media Untuk Menghasilkan Asam Gamma Linolenat*. Laporan Riset Unggulan Terpadu II 1996/1996. FATETA, IPB. Bogor.
- Paoletti, A. dan Kritchevsky, D. 1977. *Advanced in Lipid Research Vol. 15*. Academic Press. New York.
- Pape, H dan Rehm, H.J. 1986. *Microbial Products II*. Biotechnology. Vol. 4 No.6.
- Pardede, H.T. 1994. *Pemanfaatan Ampas Tapioka, Ampas Tahu dan Dedak Padi Untuk Memproduksi Pigmen Karotenoid dari *Neurospora sitophyla* dengan Sistem Fermentasi Padat*. Skripsi. FATETA, IPB. Bogor.
- Prabowo, A.D., Samain dan Rangkuti, M. 1985. *Pemanfaatan Ampas Tahu Sebagai Makanan Tambahan dalam Usaha Penggemukan Daging Potong*. Buletin Limbah Pangan : 172 – 174.
- Rahman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Mikrobiologi Pangan dan Gizi PAU. Bogor.
- \_\_\_\_\_. 1992. *Teknologi Fermentasi*. Arcan. Jakarta.
- \_\_\_\_\_. 1992. *Teknologi Fermentasi Industrial II*. Arcan. Jakarta.

- Ratledge, C. 1983. *Microbial Oil and Fats : Assesment of Their Commercial Potential*. Industrial Microbiology No. 16.
- Ratledge, C. Dan Wilkinson, S.G. 1988. *Microbial Lipid*. Vol. 2. Academic Press. London.
- Ridawati. 1993. *Produksi Pigmen oleh Monascus purpureus BC 88202 pada Media Campuran Limbah Cair Tapioka, Ampas Tapioka dan Ampas Tahu*. Skripsi. FATETA, IPB. Bogor.
- Rita Utari. 1997. *Seleksi Kapang Mucor Untuk Produksi Minyak Mengandung Asam Gamma Linolenat dengan Sistem Fermentasi Padat pada Media Onggok-Ampas Tahu dan Onggok-Dedak Padi*. Skripsi. FATETA, IPB. Bogor.
- Saputro, L. 1987. *Produksi Alfa-amilase Pada Fermentasi Aspergillus nige dan A. oryzae dengan Suplementasi Limbah Tapioka dan Dedak Padi*. Skripsi. FATETA, IPB. BOgor.
- Setiawiharja, B. 1982. *Production of Fungal Pectinases by Solid State Fermentation Using Tapioka Waste*. UN/FAO International Food Technological Training Center Food Technology Research Institute, Mysore 570013, India.
- Shaw, R. 1965. *The Occurrence of Gamma Linolenic Acid in Fungi*. Biochem. Biophys. Acta. 98 : 230.
- Sinthia Prideaka Soekarto. 1996. *Produksi Minyak Mengandung Asam Gamma Linolenat Tinggi dari Kapang Mucor inaequisporus M0511/4 dengan Berbagai Sumber N dari Limbah Industri Pertanian*. Skripsi. FATETA, IPB. Bogor.
- Sudarmadji, Bambang Haryono dan Suhardi. 1984. *Penuntun Praktikum Analisis Bahan Makanan*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Suhartono, M.T. 1989. *enzim dan Bioteknologi*. PAU Bioteknologi, IPB. Bogor.
- Suliantari, L. Nuraida, N. Andarwulan, Djuahanawati dan Nugrahaningrum, 1996. *Produksi Asam Gamma Linolenat Menggunakan Rhizopus*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, Vol. I (2) : 45 – 49.
- Sundhagul, M. 1972. *Feasibility Study on Tapioca Waste Recovery*. The Ministry of Education Malaysia, Kuala Lumpur.
- Svedsen, A. 1994. *Action of Esterases in Presence of Organik Solvents*. Biochem. J. 30 : 609 – 617.
- Tjiptadi, W. Dan R.T.M. Sutamiharja. 1985. *Pemanfaatan Limbah Padat Industri Tapioka Sebagai Bahan Makanan Manusia*. Laporan Riset Unggulan Terpadu II/1984. FATETA, IPB. Bogor.

- Tsao, G. 1982. *Annual Report on Fermentation Processes*. Academic Press. New York.
- Wassef, M.K. 1975. *Fungal Lipids*. Adv. Lipid Res. Vol. 15. Academic Press. New York.
- Winarno, F.G. 1985. *Monografi Limbah Pertanian*. Kantor Menteri Muda Urusan Peningkatan Produksi Pangan. Jakarta.

### Lampiran 1. Tata Letak Percobaan di Laboratorium

S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>
S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>
S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>
S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>
S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>
S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>
S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>
S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>
S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>
S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>
Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III

#### Keterangan :

- S<sub>1</sub>F<sub>1</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6039 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 25 : 1
- S<sub>1</sub>F<sub>2</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6039 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 30 : 1
- S<sub>1</sub>F<sub>3</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6039 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 35 : 1
- S<sub>1</sub>F<sub>4</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6039 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 40 : 1
- S<sub>1</sub>F<sub>5</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6039 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 45 : 1
- S<sub>2</sub>F<sub>1</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6040 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 25 : 1
- S<sub>2</sub>F<sub>2</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6040 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 30 : 1
- S<sub>2</sub>F<sub>3</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6040 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 35 : 1
- S<sub>2</sub>F<sub>4</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6040 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 40 : 1
- S<sub>2</sub>F<sub>5</sub> = perlakuan strain kapang *Aspergillus terreus* FNOC 6040 yang diinokulasi pada media onggok-ampas tahu dengan rasio C : N = 45 : 1

## Lampiran 2. Contoh Perhitungan Penentuan Kadar Karbon (C) dan Nitrogen (N) serta Formulasi Media Onggok-Ampas Tahu

### A. CONTOH PERHITUNGAN PENENTUAN KADAR C

#### 1. Bahan Dasar : Onggok

Hasil analisis proksimat onggok :

Kadar air	= 6,75%	Kadar Abu	= 1,09%
Kadar nitrogen	= 0,88%	Kadar Protein	= 5,51%
Kadar lemak	= 2,54%	Kadar Gula Total	= 0,31%

##### a. Sumber C dari karbohidrat

Kandungan karbohidrat dalam onggok :

$$= \text{bahan} - (\text{kadar air} + \text{kadar abu} + \text{kadar protein} + \text{kadar lemak})$$

$$= 100 - (6,75 + 1,09 + 5,51 + 2,54) = 84,11\%$$

Untuk menghitung kadar C, karbohidrat dalam bahan dianggap terdiri dari pati dan gula.

- Kadar pati (by different) =  $84,11\% - 0,31\% = 83,80\%$
- Kadar C dari pati (homopolimer dari glukosa) :

$$\text{Kadar C} = \frac{\text{kadar pati} \times \text{berat C dalam glukosa}}{\text{fk} \times \text{BM glukosa}}$$

$$\text{fk} = \text{faktor koreksi} = 0,9$$

$$\text{Kadar C dari pati} = \frac{83,80}{0,9} \times \frac{6 \times 12}{180} = 37,24 / 100 \text{ g onggok}$$

- Kadar C dari gula =  $0,31 \times \frac{72}{180} = 0,124 / 100 \text{ g onggok}$

##### b. Sumber C dari lemak

Asumsi : lemak tersusun dari trigliserida sederna dengan asam lemak dominan asam arakhidonat ( $C_{20,4}$ )

$$\begin{aligned} \text{Kadar C} &= \text{kadar lemak} \times \frac{\text{berat C dalam lemak}}{\text{BM triarakhidonat}} \\ &= 2,54 \times \frac{756}{912} = 2,1 / 100 \text{ g onggok} \end{aligned}$$

c. Sumber C dari protein (polimer asam amino : asam glutamat)

$$\begin{aligned} \text{Kadar C} &= \text{kadar protein} \times \frac{\text{kadar C dalam protein}}{\text{BM asam glutamat}} \\ &= 5,51 \times \frac{60}{147} = 2,25 / 100 \text{ g onggok} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar C onggok} &= \text{kadar pati} + \text{kadar gula} + \text{kadar lemak} + \text{kadar protein} \\ &= 37,24 + 0,124 + 2,1 + 2,25 = 41,71 \text{ g} / 100 \text{ g onggok} \end{aligned}$$

## 2. Bahan Dasar : Onggok

Hasil analisis proksimat ampas tahu :

Kadar air	= 13,83%	Kadar Abu	= 3,36%
Kadar nitrogen	= 2,52%	Kadar Protein	= 15,75%
Kadar lemak	= 12,10%	Kadar Gula Total	= 0,23%

a. Sumber C dari karbohidrat

Kandungan karbohidrat dalam onggok :

$$\begin{aligned} &= \text{bahan} - (\text{kadar air} + \text{kadar abu} + \text{kadar protein} + \text{kadar lemak}) \\ &= 100 - (13,83 + 3,36 + 15,75 + 12,10) = 54,96\% \end{aligned}$$

Untuk menghitung kadar C, karbohidrat dalam bahan dianggap terdiri dari pati dan gula.

- Kadar pati (by different) =  $54,96\% - 0,23\% = 54,73\%$
- Kadar C dari pati (homopolimer dari glukosa) :

$$\text{Kadar C} = \frac{\text{kadar pati}}{\text{fk}} \times \frac{\text{berat C dalam glukosa}}{\text{BM glukosa}}$$

$$\text{fk} = \text{faktor koreksi} = 0,9$$

$$\text{Kadar C dari pati} = \frac{54,73}{0,9} \times \frac{6}{180} \times 12 = 24,324 / 100 \text{ g onggok}$$

- $\text{Kadar C dari gula} = 0,23 \times \frac{72}{180} = 0,092 / 100 \text{ g onggok}$

b. Sumber C dari lemak

Asumsi : lemak tersusun dari trigliserida sederhana dengan asam lemak dominan asam arakhidonat (C<sub>20,4</sub>)

$$\begin{aligned} \text{Kadar C} &= \text{kadar lemak} \times \frac{\text{berat C dalam lemak}}{\text{BM triarakhidonat}} \\ &= 12,10 \times \frac{756}{912} = 10,03 / 100 \text{ g onggok} \end{aligned}$$

c. Sumber C dari protein (polimer asam amino : asam glutamat)

$$\begin{aligned} \text{Kadar C} &= \text{kadar protein} \times \frac{\text{kadar C dalam protein}}{\text{BM asam glutamat}} \\ &= 5,51 \times \frac{60}{147} = 2,25 / 100 \text{ g onggok} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar C onggok} &= \text{kadar pati} + \text{kadar gula} + \text{kadar lemak} + \text{kadar protein} \\ &= 24,32 + 0,092 + 10,03 + 6,43 = 40,87 \text{ g} / 100 \text{ g onggok} \end{aligned}$$

## B. CONTOH FORMULASI MEDIA PADAT ONGGOK-AMPAS TAHU

$$\text{Kadar C onggok} = 41,71 \text{ g} / 100 \text{ g onggok}$$

$$\text{Kadar N onggok} = 0,88 \text{ g} / 100 \text{ g onggok}$$

$$\text{Kadar C ampas tahu} = 40,87 \text{ g} / 100 \text{ g ampas tahu}$$

$$\text{Kadar N ampas tahu} = 2,52 \text{ g} / 100 \text{ g ampas tahu}$$

- a. Perbandingan C/N = 25/1 untuk formulasi onggok-ampas tahu (basis : 100 g onggok)

$$\frac{25}{1} = \frac{(0,4171 \times 100) + (0,4087 \times Y)}{(0,0088 \times 100) + (0,0252 \times Y)}$$

$$\frac{25}{1} = \frac{(41,71) + (0,4087 Y)}{(0,88) + (0,0252 Y)}$$

$$25 ((0,88) + (0,0252 Y)) = 41,71 + 0,4087 Y$$

$$22 + 0,63 Y = 41,71 + 0,4087 Y$$

$$0,63 Y - 0,4087 Y = 19,71 - 22$$

$$0,2213 Y = 19,71$$

$$Y = 89,06 \text{ g}$$

Jadi 100 g onggok + 89,06 g ampas tahu

- b. Perbandingan C/N = 30/1 untuk formulasi onggok-ampas tahu (basis : 100 g onggok)

$$\frac{30}{1} = \frac{(0,4171 \times 100) + (0,4087 \times Y)}{(0,0088 \times 100) + (0,0252 \times Y)}$$

$$\frac{30}{1} = \frac{(41,71) + (0,4087 Y)}{(0,88) + (0,0252 Y)} \longrightarrow Y = 44,08 \text{ g}$$

Jadi 100 g onggok + 44,08 g ampas tahu



- c. Perbandingan C/N = 30/1 untuk formulasi onggok-ampas tahu (basis : 100 g onggok)

$$\frac{35}{1} = \frac{(0,4171 \times 100) + (0,4087 \times Y)}{(0,0088 \times 100) + (0,0252 \times Y)}$$

$$\frac{35}{1} = \frac{(41,71) + (0,4087 Y)}{(0,88) + (0,0252 Y)} \longrightarrow Y = 23,05 \text{ g}$$

Jadi 100 g onggok + 23,05 g ampas tahu

- d. Perbandingan C/N = 30/1 untuk formulasi onggok-ampas tahu (basis : 100 g onggok)

$$\frac{40}{1} = \frac{(0,4171 \times 100) + (0,4087 \times Y)}{(0,0088 \times 100) + (0,0252 \times Y)}$$

$$\frac{40}{1} = \frac{(41,71) + (0,4087 Y)}{(0,88) + (0,0252 Y)} \longrightarrow Y = 10,86 \text{ g}$$

Jadi 100 g onggok + 10,86 g ampas tahu

- e. Perbandingan C/N = 45/1 untuk formulasi onggok-ampas tahu (basis : 100 g onggok)

$$\frac{45}{1} = \frac{(0,4171 \times 100) + (0,4087 \times Y)}{(0,0088 \times 100) + (0,0252 \times Y)}$$

$$\frac{45}{1} = \frac{(41,71) + (0,4087 Y)}{(0,88) + (0,0252 Y)} \longrightarrow Y = 2,91 \text{ g}$$

Jadi 100 g onggok + 2,91 g ampas tahu

**Lampiran 3. Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%)**

Data Statistik Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	75,53	84,49	71,24	231,26	77,09
S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	74,04	67,36	66,43	207,83	69,28
S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	75,31	72,24	73,01	220,56	73,52
S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	67,15	79,79	75,68	222,62	74,21
S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	62,13	64,37	62,70	189,20	63,07
S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	72,21	75,30	66,91	214,42	71,47
S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	78,61	72,38	83,03	234,02	78,01
S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	69,95	74,31	63,78	208,04	69,35
S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	72,28	75,51	76,75	224,54	74,85
S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	62,97	72,06	67,13	202,16	67,39
Total	710,18	737,81	706,66	2145,65	

Data Statistik Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu setelah ditransformasi dengan Arc.Sin  $\sqrt{x}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	60,33	66,78	57,55	184,66	61,55
S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	59,34	55,14	54,57	169,05	56,35
S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	60,18	58,18	58,68	177,04	59,01
S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	55,01	63,26	60,43	178,70	59,57
S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	52,00	53,33	52,34	157,67	52,56
S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	58,16	60,17	54,86	173,19	57,73
S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	62,43	58,27	65,65	186,35	62,12
S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	56,73	59,52	52,98	169,23	56,41
S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	58,21	60,31	61,15	179,67	59,89
S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	52,50	58,07	55,00	165,57	55,19
Total	574,89	593,03	573,21	1741,13	

Tabel Dwi Arah

S	R					Total	Rata-rata
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>		
s <sub>1</sub>	186,66	169,05	177,04	178,70	157,67	867,12	57,81
s <sub>2</sub>	173,19	186,35	169,23	179,67	165,57	874,01	58,27
Total	357,85	355,40	346,27	358,37	323,24	1741,13	
Rata-rata	59,64	59,23	57,71	59,73	53,87		

Teladan Perhitungan :

1. Faktor Koreksi =  $1741,13^2 / 30$   
= 101051,1226
2. JK Total =  $60,33^2 + 59,34^2 + \dots + 55,00^2 - FK = 418,5173$
3. JK Perlakuan =  $((184,66^2 + 169,05^2 + \dots + 165,57^2)/3) - FK$   
= 238,3854
4. JK Ulangan =  $((574,89^2 + 593,03^2 + 573,21^2)/10) - FK$   
= 24,1571
5. JK Galat = JK Total – JK Perlakuan – JK Ulangan  
= 155,9784
6. JK (Strain/S) =  $((867,12^2 + 874,01^2) / 15) - FK$   
= 1,5821
7. JK (Rasio C/N (R)) =  $((357,85^2 + 355,40^2 + \dots + 323,24^2) / 6) - FK$   
= 145,8524
8. JK Interaksi (SR) = JK Perlakuan – JK (S) – JK (R)  
= 50,9509
9. KT Ulangan = JK Ulangan/ DB Ulangan  
=  $24,1571 / 2 = 12,0786$
10. KT Perlakuan = JK Perlakuan/DB Perlakuan  
=  $238,3854 / 9 = 26,4873$
11. KT Galat = JK Galat/ DB Galat  
=  $155,9748 / 18 = 8,6653$
12. KT (S) = JK (S) / DB (S)  
=  $1,5821 / 1 = 1,5821$
13. KT (R) = JK (R) / DB (R)  
=  $145,8524 / 4 = 36,4631$

14. KT Interaksi (SR) = JK Interaksi/ DB Interaksi  
= 90,9509/ 4 = 22,7377
15. Fh Perlakuan = KT Perlakuan/ KT Galat  
= 26,4873/ 8,6653 = 3,0567
16. Fh Ulangan = KT Ulangan/ KT Galat  
= 12,0786/ 8,6653 = 1,3939
17. Fh (S) = KT (S) / KT Galat  
= 1,5821/ 8,6653 = 0,1826
- 18 Fh (R) = KT (R) / KT Galat  
= 36,4631/ 8,6653 = 4,2079
19. Fh Interaksi (SR) = KT Interaksi/ KT Galat  
= 22,7377/ 8,6653 = 2,6240

Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fh	F.05
Ulangan	2	24,1571	12,0786	1,3939	3,55
Perlakuan	9	238,3854	26,4873	3,0567 *	2,46
S	1	1,5824	1,5824	0,1826	4,41
R	4	145,8524	36,4631	4,2079 *	2,93
SR	4	90,9506	22,7377	2,6240	2,93
Galat	18	155,9748	8,6653		
Total	29	418,5173	14,4316		

Keterangan : \* = berbeda nyata

Uji Efek Mandiri :

$$S_x(S) = \sqrt{\frac{KTGalat}{R * r}} = 0,7601$$

$$S_x(R) = \sqrt{\frac{KTGalat}{S * r}} = 1,2018$$

Sx (S) = 0,7601	Sx (R) = 1,2018			
SSR = 2,97	SSR = 2,97	3,12	3,21	3,27
LSR = 2,2574	LSR = 3,5692	3,7495	3,8576	3,9297

Pengaruh Strain *A. Terreus* terhadap Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata			LSR	Keterangan
s <sub>1</sub>	57,81	0,00			-	a
s <sub>2</sub>	58,27	0,46	0,00		2,2574	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

Pengaruh Rasio C/N terhadap Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata					LSR	Keterangan
r <sub>5</sub>	53,87	0,00	-	-				b
r <sub>3</sub>	57,71	3,84	0,00	-			3,5692	a
r <sub>2</sub>	59,23	5,36	1,52	0,00	-		3,7495	a
r <sub>1</sub>	59,64	5,77	1,93	0,41	0,00	-	3,8576	a
r <sub>4</sub>	59,73	5,86	2,02	0,50	0,09	0,00	3,9297	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

**Lampiran 4. Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Pati Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%)**

Data Statistik Kadar Air Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
s <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	21,34	21,10	21,22	63,66	21,22
s <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	26,54	26,86	27,17	80,57	26,86
s <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	22,76	22,31	22,54	67,61	22,54
s <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	32,53	32,30	32,06	96,89	32,30
s <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	27,06	28,66	27,86	83,58	27,86
s <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	25,20	25,17	25,13	75,50	25,17
s <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	26,21	26,45	26,33	78,99	26,33
s <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	31,86	31,50	31,14	94,50	31,50
s <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	22,89	23,23	23,06	69,18	23,06
s <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	31,43	30,76	30,09	92,28	30,76
Total	267,82	268,34	266,60	802,76	

Data Statistik Kadar Pati Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu setelah ditransformasi dengan Arc.Sin  $\sqrt{x}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
s <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	27,50	27,33	27,42	82,25	27,42
s <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	31,00	31,20	31,40	93,60	31,20
s <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	28,48	28,17	28,33	84,98	28,33
s <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	34,76	34,62	34,47	103,85	34,62
s <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	31,33	32,35	31,85	95,53	31,84
s <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	30,12	30,10	30,07	90,29	30,10
s <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	30,78	30,94	30,86	92,58	30,86
s <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	34,35	34,13	33,91	102,39	34,13
s <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	28,57	28,80	28,69	86,06	28,69
s <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	34,09	33,67	33,25	101,01	33,67
Total	310,98	311,31	310,25	932,54	

Tabel Dwi Arah

S	R					Total	Rata-rata
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>		
s <sub>1</sub>	82,25	93,60	84,98	103,85	95,53	460,21	30,68
s <sub>2</sub>	90,29	92,58	102,39	86,06	101,01	472,33	31,49
Total	172,54	186,18	187,37	189,91	196,54	932,54	
Rata-rata	28,76	31,03	31,23	31,65	32,76		

Teladan Perhitungan :

1. Faktor Koreksi =  $932,54^2 / 30$   
= 28987,6951
2. JK Total =  $27,50^2 + 31,00^2 + \dots + 33,25^2 - FK = 171,7741$
3. JK Perlakuan =  $((82,25^2 + 93,60^2 + \dots + 101,01^2) / 3) - FK$   
= 170,5791
4. JK Ulangan =  $((310,98^2 + 311,31^2 + 310,25^2) / 10) - FK$   
= 0,0588
5. JK Galat = JK Total – JK Perlakuan – JK Ulangan  
= 1,1362
6. JK (Strain/S) =  $((460,21^2 + 472,33^2) / 15) - FK$   
= 4,8962
7. JK (Rasio C/N (R)) =  $((172,54^2 + 186,18^2 + \dots + 196,54^2) / 6) - FK$   
= 51,3617
8. JK Interaksi (SR) = JK Perlakuan – JK (S) – JK (R)  
= 114,3212
9. KT Ulangan = JK Ulangan / DB Ulangan  
=  $0,0588 / 2 = 0,0294$
10. KT Perlakuan = JK Perlakuan / DB Perlakuan  
=  $170,5791 / 9 = 18,9532$
11. KT Galat = JK Galat / DB Galat  
=  $1,1362 / 18 = 0,0631$
12. KT (S) = JK (S) / DB (S)  
=  $4,8962 / 1 = 4,8962$
13. KT (R) = JK (R) / DB (R)  
=  $51,3617 / 4 = 12,8404$

14. KT Interaksi (SR) = JK Interaksi/ DB Interaksi  
= 114,3212/ 4 = 28,5803
15. Fh Perlakuan = KT Perlakuan/ KT Galat  
= 18,9532/ 0,0631 = 300,3677
16. Fh Ulangan = KT Ulangan/ KT Galat  
= 0,0294/ 0,0631 = 0,4659
17. Fh (S) = KT (S) / KT Galat  
= 4,8962/ 0,0631 = 77,5943
- 18 Fh (R) = KT (R) / KT Galat  
= 12,4804/ 0,0631 = 203,4929
19. Fh Interaksi (SR) = KT Interaksi/ KT Galat  
= 28,5803/ 0,0631 = 452,9366

Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fh	F.05
Ulangan	2	0,0588	0,0294	0,4659	3,55
Perlakuan	9	170,5791	18,9532	300,3677 **	2,46
S	1	4,8962	4,8962	77,5943 **	4,41
R	4	51,3617	12,8404	203,4929 **	2,93
SR	4	114,3212	28,5803	452,9366 **	2,93
Galat	18	1,1362	0,0631		
Total	29	171,7741	5,9232		

Keterangan : \*\* = sangat berbeda nyata

Uji Interaksi :

$$S_x = \sqrt{\frac{KTGalat}{r}} = 0,1450$$

Sx (S) = 0,1450			
SSR = 2,97	3,12	3,21	3,27
LSR = 0,4307	0,4525	0,4655	0,4742

Pengaruh Strain *A. Terreus* pada Berbagai Rasio C/N terhadap Kadar Pati Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu



Perlakuan	Selisih rata-rata					LSR	Keterangan
s <sub>1</sub> r <sub>1</sub> = 27,42	0,00					-	e
s <sub>1</sub> r <sub>3</sub> = 28,33	0,91	0,00				0,4307	d
s <sub>1</sub> r <sub>2</sub> = 31,20	3,78	2,87	0,00			0,4525	c
s <sub>1</sub> r <sub>5</sub> = 31,84	4,42	3,51	0,64	0,00		0,4655	b
s <sub>1</sub> r <sub>4</sub> = 34,62	7,20	6,29	3,42	2,78	0,00	0,4742	a
s <sub>2</sub> r <sub>4</sub> = 28,69	0,00					-	d
s <sub>2</sub> r <sub>1</sub> = 30,10	1,41	0,00				0,4307	c
s <sub>2</sub> r <sub>2</sub> = 30,86	2,17	0,76	0,00			0,4525	b
s <sub>2</sub> r <sub>5</sub> = 33,67	4,98	3,57	2,81	0,00		0,4655	a
s <sub>2</sub> r <sub>3</sub> = 34,13	5,44	4,03	3,27	0,46	0,00	0,4742	a

Pengaruh Rasio C/N pada Berbagai Strain *A. Terreus* terhadap Kadar Pati Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Selisih			LSR	Keterangan
s <sub>1</sub> r <sub>1</sub>	27,42	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>1</sub>	30,10	2,68	0,00	0,4307	A
s <sub>2</sub> r <sub>2</sub>	30,86	0,00		-	A
s <sub>1</sub> r <sub>2</sub>	31,20	0,34	0,00	0,4307	A
s <sub>1</sub> r <sub>3</sub>	28,33	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>3</sub>	34,13	5,80	0,00	0,4307	A
s <sub>2</sub> r <sub>4</sub>	28,69	0,00		-	B
s <sub>1</sub> r <sub>4</sub>	34,62	5,93	0,00	0,4307	A
s <sub>1</sub> r <sub>5</sub>	31,84	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>5</sub>	33,67	1,83	0,00	0,4307	A

Pengaruh Strain *A. Terreus* dan Rasio C/N pada Produksi Minyak Sel Tunggal terhadap Kadar Pati Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	R				
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>
s <sub>1</sub>	27,42 B e	31,20 A c	28,33 B d	34,62 A a	31,84 B b
s <sub>2</sub>	30,10 A c	30,86 A b	34,13 A a	28,69 B d	33,67 A a

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf kecil yang sama (arah horizontal) dan huruf besar yang sama (arah vertikal) tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

**Lampiran 5. Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%)**

Data Statistik Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	0,90	0,89	0,90	2,69	0,90
S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	1,03	1,02	1,01	3,06	1,02
S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	0,45	0,42	0,44	1,31	0,44
S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	0,52	0,51	0,49	1,52	0,51
S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	0,91	0,90	0,91	2,72	0,91
S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	0,88	0,87	0,86	2,61	0,87
S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	1,12	1,04	1,08	3,24	1,08
S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	0,97	0,97	0,97	2,91	0,97
S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	1,23	1,26	1,25	3,74	1,25
S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	1,15	1,12	1,09	3,36	1,12
Total	9,16	9,00	9,00	27,16	

Data Statistik Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu setelah ditransformasi dengan Arc.Sin  $\sqrt{x}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	5,44	5,41	5,44	16,29	5,43
S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	5,82	5,79	5,77	17,38	5,79
S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	3,84	3,71	3,80	11,35	3,78
S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	4,13	4,09	4,01	12,23	4,08
S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	5,47	5,44	5,47	16,38	5,46
S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	5,38	5,35	5,32	16,05	5,35
S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	6,07	5,85	5,96	17,88	5,96
S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	5,65	5,65	5,65	16,95	5,65
S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	6,36	6,44	6,42	19,22	6,41
S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	6,15	6,07	5,99	18,21	6,07
Total	54,31	53,80	53,83	161,94	

Tabel Dwi Arah

S	R					Total	Rata-rata
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>		
s <sub>1</sub>	16,29	17,38	11,35	12,23	16,38	73,63	4,91
s <sub>2</sub>	16,05	17,88	16,95	19,22	18,21	88,31	5,89
Total	32,34	35,26	28,30	31,45	34,59	161,94	
Rata-rata	5,39	5,88	4,72	5,24	5,77		

Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fh	F.05
Ulangan	2	0,0164	0,0082	3,28	3,55
Perlakuan	9	19,0946	2,1216	848,64 **	2,46
S	1	7,1839	7,1839	2873,56 **	4,41
R	4	5,1152	1,2788	511,52 **	2,93
SR	4	6,7955	1,6989	679,56 **	2,93
Galat	18	0,0447	0,0025		
Total	29	19,1557	0,6605		

Keterangan : \*\* = sangat berbeda nyata

Uji Interaksi :

$$S_x = \sqrt{\frac{KTGalat}{r}} = 0,0289$$

S <sub>x</sub> (S) = 0,0289				
SSR = 2,97	3,12	3,21	3,27	
LSR = 0,0857	0,0901	0,0927	0,0944	

Pengaruh Strain *A. Terreus* pada Berbagai Rasio C/N terhadap Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Selisih rata-rata						LSR	Keterangan
s <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	3,78	0,00					-	d
s <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	4,08	0,30	0,00				0,0857	c
s <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	5,43	1,65	1,35	0,00			0,0901	b
s <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	5,46	1,68	1,38	0,03	0,00		0,0927	b
s <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	5,79	2,01	1,71	0,36	0,33	0,00	0,0944	a
s <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	5,35	0,00					-	e
s <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	5,65	0,30	0,00				0,0857	d
s <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	5,96	0,61	0,31	0,00			0,0901	c
s <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	6,07	0,72	0,42	0,11	0,00		0,0927	b
s <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	6,41	1,06	0,76	0,45	0,34	0,00	0,0944	a

Pengaruh Rasio C/N pada Berbagai Strain *A. Terreus* terhadap Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Selisih			LSR	Keterangan
s <sub>2</sub> r <sub>1</sub>	5,35	0,00		-	A
s <sub>1</sub> r <sub>1</sub>	5,43	0,08	0,00	0,0857	A
s <sub>1</sub> r <sub>2</sub>	5,79	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>2</sub>	5,96	0,17	0,00	0,0857	A
s <sub>1</sub> r <sub>3</sub>	3,78	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>3</sub>	5,65	1,87	0,00	0,0857	A
s <sub>1</sub> r <sub>4</sub>	4,08	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>4</sub>	6,41	2,33	0,00	0,0857	A
s <sub>1</sub> r <sub>5</sub>	5,46	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>5</sub>	6,07	0,61	0,00	0,0857	A

Pengaruh Strain *A. Terreus* dan Rasio C/N pada Produksi Minyak Sel Tunggal terhadap Kadar Gula Total Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	R				
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>
S					
s <sub>1</sub>	5,43 B b	5,79 B a	3,78 B d	4,08 B c	5,46 B b
s <sub>2</sub>	5,35 A e	5,96 A c	5,65 A d	5,41 A a	6,07 A b

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf kecil yang sama (arah horizontal) dan huruf besar yang sama (arah vertikal) tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

**Lampiran 6. Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Lemak/Minyak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%)**

Data Statistik Kadar Lemak/Minyak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	6,73	7,06	6,90	20,69	6,90
S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	8,25	7,79	7,32	23,36	7,79
S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	6,65	6,86	6,76	20,27	6,76
S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	7,96	8,05	8,13	24,14	8,05
S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	9,32	9,58	9,45	28,35	9,45
S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	10,13	11,18	12,43	33,74	11,25
S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	10,03	13,59	11,81	35,43	11,81
S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	9,35	10,53	11,72	31,60	10,53
S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	12,43	14,48	13,46	40,37	13,46
S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	13,90	14,63	15,35	43,88	14,63
Total	94,73	103,75	103,33	301,81	

Data Statistik Kadar Lemak/Minyak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu setelah ditransformasi dengan Arc.Sin  $\sqrt{x}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
S <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	15,03	15,40	15,22	45,65	15,22
S <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	16,69	16,20	15,69	48,58	16,19
S <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	14,94	15,18	15,06	45,18	15,06
S <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	16,38	16,48	16,56	49,42	16,47
S <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	17,77	18,02	17,90	53,69	17,90
S <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	18,55	19,53	20,64	58,72	19,57
S <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	18,46	21,62	20,09	60,17	20,06
S <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	17,80	18,93	20,01	56,74	18,91
S <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	20,64	22,36	21,51	64,51	21,50
S <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	21,88	22,48	23,06	67,42	22,47
Total	178,12	186,20	185,74	550,06	

Tabel Dwi Arah

S	R					Total	Rata-rata
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>		
s <sub>1</sub>	45,65	48,58	45,18	49,42	53,69	242,52	16,17
s <sub>2</sub>	58,72	60,17	56,74	64,51	67,42	307,56	20,50
Total	104,37	108,75	101,92	113,93	121,11	550,08	
Rata-rata	17,40	18,13	16,98	18,99	20,19		

Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fh	F.05
Ulangan	2	4,1187	2,0594	4,4288	3,55
Perlakuan	9	182,0485	20,2276	43,5002 **	2,46
S	1	1409198	1409198	303,0533 **	4,41
R	4	39,6242	9,9061	21,3034 **	2,93
SR	4	1,5045	0,3761	0,8088	2,93
Galat	18	8,3703	0,4650		
Total	29	194,5375	6,7082		

Keterangan : \* = berbeda nyata

\*\* = sangat berbeda nyata

Uji Efek Mandiri :

$$S_x(S) = \sqrt{\frac{KTGalat}{R * r}} = 0,1761$$

$$S_x(R) = \sqrt{\frac{KTGalat}{S * r}} = 0,2784$$

S <sub>x</sub> (S) = 0,1761	S <sub>x</sub> (R) = 0,2784				
SSR = 2,97	SSR = 2,97	3,12	3,21	3,27	
LSR = 0,5229	LSR = 0,8268	0,8686	0,8936	0,9103	

Pengaruh Strain *A. Terreus* terhadap Kadar Lemak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata			LSR	Keterangan
s <sub>1</sub>	16,17	0,00			-	b
s <sub>2</sub>	20,50	4,33	0,00		0,5229	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

Pengaruh Rasio C/N terhadap Kadar Lemak Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata					LSR	Keterangan
r <sub>3</sub>	16,98	0,00	-	-			-	d
r <sub>1</sub>	17,40	0,42	0,00	-			0,8268	cd
r <sub>2</sub>	18,13	1,15	0,73	0,00	-		0,8686	bc
r <sub>4</sub>	18,99	2,01	1,59	0,86	0,00	-	0,8936	b
r <sub>5</sub>	20,19	3,21	2,79	2,06	1,20	0,00	0,9103	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

**Lampiran 7. Data dan Hasil Uji Statistik Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%)**

Data Statistik Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
s <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	3,86	3,84	3,85	11,55	3,85
s <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	2,73	2,72	2,71	8,16	2,72
s <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	2,75	2,75	2,75	8,25	2,75
s <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	2,73	2,73	2,73	8,19	2,73
s <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	5,48	5,46	5,47	16,41	5,47
s <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	2,50	2,53	2,55	7,58	2,53
s <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	3,50	3,62	3,56	10,68	3,56
s <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	3,38	3,43	3,47	10,28	3,43
s <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	2,71	2,70	2,71	8,12	2,71
s <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	3,24	3,25	3,26	9,75	3,25
Total	32,88	33,03	33,06	98,97	

Data Statistik Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu setelah ditransformasi dengan Arc.Sin  $\sqrt{x}$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
s <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	11,33	11,30	11,31	33,94	11,31
s <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	9,51	9,49	9,47	28,47	9,49
s <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	9,54	9,54	9,54	28,62	9,54
s <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	9,51	9,51	9,51	28,53	9,51
s <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	13,53	13,51	13,52	40,56	13,52
s <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	9,09	9,15	9,19	27,43	9,14
s <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	10,78	10,96	10,87	32,61	10,87
s <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	10,59	10,67	10,73	31,99	10,66
s <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	9,47	9,45	9,47	28,39	9,46
s <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	10,37	10,38	10,40	31,15	10,38
Total	103,72	103,96	104,01	311,69	

Tabel Dwi Arah

S	R					Total	Rata-rata
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>		
s <sub>1</sub>	33,94	28,47	28,62	28,53	40,56	160,12	10,67
s <sub>2</sub>	27,43	32,61	31,99	28,39	31,15	151,57	10,10
Total	61,37	61,08	60,61	56,92	71,71	311,69	
Rata-rata	10,23	10,18	10,10	9,49	11,95		



Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fh	F.05
Ulangan	2	0,0048	0,0024	1,5000	3,55
Perlakuan	9	47,0232	5,2248	3265,5000 **	2,46
S	1	2,4361	2,4361	1522,5625 **	4,41
R	4	20,4491	5,1123	3195,1875 **	2,93
SR	4	24,1380	6,0345	3771,5625 **	2,93
Galat	18	0,0285	0,0016		
Total	29	47,0565			

Keterangan : \*\* = sangat berbeda nyata

Uji Interaksi :

$$S_x = \sqrt{\frac{KTGalat}{r}} = 0,0231$$

S <sub>x</sub> (S)	= 0,0231			
SSR	= 2,97	3,12	3,21	3,27
LSR	= 0,0686	0,0721	0,0741	0,0755

Pengaruh Strain *A. Terreus* pada Berbagai Rasio C/N terhadap Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Selisih rata-rata						LSR	Keterangan
s <sub>1</sub> r <sub>2</sub>	9,49	0,00					-	c
s <sub>1</sub> r <sub>4</sub>	9,51	0,02	0,00				0,0686	c
s <sub>1</sub> r <sub>3</sub>	9,54	0,05	0,03	0,00			0,0721	c
s <sub>1</sub> r <sub>1</sub>	11,31	1,82	1,80	1,77	0,00		0,0741	b
s <sub>1</sub> r <sub>5</sub>	13,52	4,03	4,01	3,98	2,21	0,00	0,0755	a
s <sub>2</sub> r <sub>1</sub>	9,14	0,00					-	c
s <sub>2</sub> r <sub>4</sub>	9,46	0,32	0,00				0,0686	d
s <sub>2</sub> r <sub>5</sub>	10,38	1,24	0,92	0,00			0,0721	c
s <sub>2</sub> r <sub>3</sub>	10,66	1,52	1,20	0,28	0,00		0,0741	b
s <sub>2</sub> r <sub>2</sub>	10,87	1,73	1,41	0,49	0,21	0,00	0,0755	a

Pengaruh Rasio C/N pada Berbagai Strain *A. Terreus* terhadap Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Selisih			LSR	Keterangan
s <sub>2</sub> r <sub>1</sub>	9,14	0,00		-	B
s <sub>1</sub> r <sub>1</sub>	11,31	2,17	0,00	0,0686	A
s <sub>1</sub> r <sub>2</sub>	9,49	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>2</sub>	10,87	1,38	0,00	0,0686	A
s <sub>1</sub> r <sub>3</sub>	9,54	0,00		-	B
s <sub>2</sub> r <sub>3</sub>	10,66	1,12	0,00	0,0686	A
s <sub>2</sub> r <sub>4</sub>	9,46	0,00		-	A
s <sub>1</sub> r <sub>4</sub>	9,51	0,05	0,00	0,0686	A
s <sub>2</sub> r <sub>5</sub>	10,38	0,00		-	B
s <sub>1</sub> r <sub>5</sub>	13,52	3,14	0,00	0,0686	A

Pengaruh Strain *A. Terreus* dan Rasio C/N pada Produksi Minyak Sel Tunggal terhadap Kadar Protein Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	R				
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>
S					
s <sub>1</sub>	11,31 A b	9,49 B c	9,54 B c	9,51 A c	13,52 A a
s <sub>2</sub>	9,14 B e	10,87 A a	10,66 A b	9,46 A d	10,38 B c

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf kecil yang sama (arah horizontal) dan huruf besar yang sama (arah vertikal) tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%

**Lampiran 8. Data dan Hasil Uji Statistik Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%)**

Data Statistik Kadar Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
s <sub>1</sub> r <sub>1</sub>	6,10	5,78	4,85	16,73	5,58
s <sub>1</sub> r <sub>2</sub>	6,29	5,64	5,72	17,65	5,88
s <sub>1</sub> r <sub>3</sub>	5,33	6,01	4,75	16,09	5,36
s <sub>1</sub> r <sub>4</sub>	5,49	4,97	4,89	15,35	5,12
s <sub>1</sub> r <sub>5</sub>	5,87	4,94	4,66	15,47	5,16
s <sub>2</sub> r <sub>1</sub>	5,85	6,60	6,55	19,00	6,33
s <sub>2</sub> r <sub>2</sub>	6,07	6,10	4,49	16,66	5,55
s <sub>2</sub> r <sub>3</sub>	5,93	5,70	5,29	16,92	5,64
s <sub>2</sub> r <sub>4</sub>	5,83	4,96	5,11	15,90	5,30
s <sub>2</sub> r <sub>5</sub>	5,76	4,89	5,04	15,69	5,23
Total	58,52	55,59	51,35	165,46	

Tabel Dwi Arah

S	R					Total	Rata-rata
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>		
s <sub>1</sub>	16,73	17,65	16,09	15,35	15,47	81,29	5,42
s <sub>2</sub>	19,00	16,66	16,92	15,90	15,69	84,17	5,61
Total	35,73	34,31	33,01	31,25	31,16	165,46	
Rata-rata	5,96	5,72	5,50	5,21	5,19		

Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fh	F.05
Ulangan	2	2,5990	1,2995	6,8215 *	3,55
Perlakuan	9	3,7912	0,4212	2,2110	2,46
S	1	0,2764	0,2764	1,4509	4,41
R	4	2,5958	0,6489	3,4063 *	2,93
SR	4	0,9190	0,2298	1,2063	2,93
Galat	18	3,4293	0,1905		
Total	29	9,8195	0,3386		

Keterangan : \* = berbeda nyata

Uji Efek Mandiri :

$$S_x (S) = \sqrt{\frac{KTGalat}{R * r}} = 0,1127$$

$$S_x (R) = \sqrt{\frac{KTGalat}{S * r}} = 0,1782$$

Sx (S) = 0,1127	Sx (R) = 0,1782			
SSR = 2,97	SSR = 2,97	3,12	3,21	3,27
LSR = 0,3347	LSR = 0,5292	0,5559	0,5720	0,5827

Pengaruh Strain *A. Terreus* terhadap Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata		LSR	Keterangan
s <sub>1</sub>	5,42	0,00		-	a
s <sub>2</sub>	5,61	0,19	0,00	0,3347	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

Pengaruh Rasio C/N terhadap Nilai pH Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata				LSR	Keterangan	
r <sub>5</sub>	5,19	0,00	-	-		-	b	
r <sub>4</sub>	5,21	0,02	0,00	-		0,5292	b	
r <sub>3</sub>	5,50	0,31	0,29	0,00	-	0,5559	ab	
r <sub>2</sub>	5,72	0,53	0,51	0,22	0,00	-	0,5720	a
r <sub>1</sub>	5,96	0,76	0,75	0,45	0,24	0,00	0,5827	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

**Lampiran 9. Data dan Hasil Uji Statistik Bobot Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu (%)**

Data Statistik Bobot Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
s <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	411,60	364,40	358,00	1,134,00	378,00
s <sub>1</sub> F <sub>2</sub>	312,20	304,70	256,00	872,90	290,97
s <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	226,00	230,00	202,20	658,20	219,40
s <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	196,50	197,40	183,50	577,40	192,47
s <sub>1</sub> F <sub>5</sub>	203,95	184,60	179,30	567,85	189,28
s <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	353,35	392,70	383,75	1,129,80	376,60
s <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	362,60	254,80	331,00	948,40	316,13
s <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	194,60	227,00	200,80	622,40	207,47
s <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	199,75	155,50	198,50	553,75	184,58
s <sub>2</sub> F <sub>5</sub>	208,20	171,30	226,50	606,00	202,00
Total	2668,75	2482,40	2519,55	7670,70	

Tabel Dwi Arah

S	R					Total	Rata-rata
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>	r <sub>3</sub>	r <sub>4</sub>	r <sub>5</sub>		
s <sub>1</sub>	1134,00	872,90	658,20	577,40	567,85	3810,35	254,02
s <sub>2</sub>	1129,80	948,40	622,40	553,75	606,00	3860,35	257,36
Total	2263,80	1821,30	1280,40	1131,15	1173,85	7670,70	
Rata-rata	377,30	303,55	213,43	188,53	195,64		

Tabel Sidik Ragam

Sumber Ragam	DB	JK	KT	Fh	F.05
Ulangan	2	1945,5695	972,7848	1,3495	3,55
Perlakuan	9	163395,2020	18155,0224	25,1860 **	2,46
S	1	83,3333	83,3333	0,1156	4,41
R	4	161892,8228	40473,2057	56,1475 **	2,93
SR	4	1419,0459	354,7615	0,4922	2,93
Galat	18	12975,0655	720,8370		
Total	29	;178315,8370	6148,8220		

Keterangan : \*\* = berbeda nyata

Uji Efek Mandiri :

$$S_x (S) = \sqrt{\frac{KTGalat}{R * r}} = 6,9322$$

$$S_x (R) = \sqrt{\frac{KTGalat}{S * r}} = 10,9608$$

Sx (S) = 6,9322	Sx (R) = 0,2784				
SSR = 2,97	SSR = 2,97	3,12	3,21	3,27	
LSR = 20,5887	LSR = 32,5536	34,1977	35,1842	35,8419	

Pengaruh Strain *A. Terreus* terhadap Bobot Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata			LSR	Keterangan
s <sub>1</sub>	254,02	0,00			-	a
s <sub>2</sub>	257,36	3,34	0,00		20,5887	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

Pengaruh Rasio C/N terhadap Bobot Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu

Perlakuan		Selisih Rat-rata					LSR	Keterangan
r <sub>4</sub>	188,53	0,00	-	-			-	c
r <sub>5</sub>	195,64	7,12	0,00	-			32,5536	c
r <sub>3</sub>	213,43	24,91	17,79	0,00	-		34,1977	c
r <sub>2</sub>	303,55	115,03	107,91	90,12	0,00	-	35,1842	b
r <sub>1</sub>	377,30	188,78	181,66	163,87	73,75	0,00	35,8419	a

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Duncan pada taraf nyata 5%

**Lampiran 10. Data Analisa Proksimat Media Fermentasi Padat Onggok-Ampas Tahu Sebelum Fermentasi**

Jenis Sampel	Kadar Air (%)	Kadar Pati (%)	Kadar Gula Total (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Protein (%)	Kadar Media (g)
s <sub>1</sub> r <sub>1</sub>	65,50	23,84	0,96	2,82	4,35	448,00
s <sub>1</sub> r <sub>2</sub>	61,36	31,35	1,06	1,80	2,89	345,00
s <sub>1</sub> r <sub>3</sub>	69,39	25,84	0,58	0,45	2,96	259,30
s <sub>1</sub> r <sub>4</sub>	60,31	35,17	0,67	0,29	3,03	228,50
s <sub>1</sub> r <sub>5</sub>	59,41	32,30	1,25	0,23	6,26	228,70
s <sub>2</sub> r <sub>1</sub>	66,83	27,83	1,25	0,33	3,45	394,90
s <sub>2</sub> r <sub>2</sub>	62,93	29,64	1,44	2,07	3,90	425,50
s <sub>2</sub> r <sub>3</sub>	60,12	33,99	1,06	0,73	3,64	226,90
s <sub>2</sub> r <sub>4</sub>	68,14	26,64	1,54	0,70	2,91	229,00
s <sub>2</sub> r <sub>5</sub>	60,08	33,91	1,44	0,38	3,88	230,00

**Lampiran 11. Foto Sampel dan Hasil Penelitian Produksi Minyak Sel Tunggal oleh *Aspergillus terreus* dengan Sistem Fermentasi Padat Media Onggok-Ampas Tahu.**

**Keterangan gambar :**

- A : Inokulum bubuk/laru *Aspergillus terreus* FNOC 6039
- B : Inokulum bubuk/laru *Aspergillus terreus* FNOC 6040
- C : Media onggok-ampas tahu sebelum fermentasi
- D : Media onggok-ampas tahu setelah fermentasi
- E : Media onggok-ampas tahu setelah difermentasi dan dikeringkan
- F : Media fermentasi onggok-ampas tahu setelah digiling (dihaluskan)
- G : Minyak sel tunggal hasil dari ekstraksi media fermentasi onggok-ampas tahu dengan metode Soxhlet



**Lampiran 12. Foto Minyak Kapang *Aspergillus terreus***

**Foto**

Tabel 4      Tabel 5      Tabel 6      Tabel 7      Tabel 8

Tabel 4      Tabel 5      Tabel 6      Tabel 7      Tabel 8

Tabel 9      Tabel 10      Tabel 11      Tabel 12      Tabel 13

Tabel 9      Tabel 10      Tabel 11      Tabel 12      Tabel 13

**Lampiran 1.**                      **Lampiran 2.**                      **Lampiran 3.**                      **Lampiran 4.**

**Lampiran 5.**                      **Lampiran 6.**                      **Lampiran 7.**                      **Lampiran 8.**

**Lampiran 9.**                      **Lampiran 10.**                      **Lampiran 11.**                      **Lampiran 12.**

**Lampiran 13.**                      **Lampiran 14.**                      **Lampiran 15.**

70              71              72              73              74              75

76              77              78              79              80              81

82              83              84              85              86              87

88              89              90              91              92              93

94	95	96	97	98	99
100	101	102	103	104	105
106	107	108	109	110	
70	71	72	73	74	75
76	77	78	79	80	81
82	83	84	85	86	87
88	89	90	91	92	93
94	95	96	97	98	99
100	101	102	103	104	105
106	107	108	109	110	

