SOLID STATE - FERMENTATION ON CASSAVA POMACE WITH *Aspergillus oryzae*: THE EVALUATION OF PROTEINS AND AMINO ACIDS CONTENT, DIGESTIBILITY, AND BIOAVAILABILITY ENERGY FOR BROILER ROASTERS

ABSTRACT

The objective of the research was to know the content of proteins, amino acids, digestibility and bioavailability energy on fermented-cassava pomace. Cassava pomace was fermented aerobically with *Aspergillus oryzae* using solid state-fermentation (SSF) method for 72 (OF-72) and 144 (OF-144) hours, and then was followed by anaerobic incubation for 48 hours. The samples of OF-0, OF-72, and OF-144 was measured for dry matter and crude protein content, soluble protein, amino acids and gross energy. Twelve Lohman strain broiler roosters of 12 weeks old were fasted for 24 hours, then nine of them were fed with non-fermented cassava pomace (OF-0), OF-72 and OF-144 material-test (each was done for three chicks) by using wet forced-feeding technique. After being force-fed, all chicks were fasted and the excreta was collected for 2x24 hours period. The excreta samples were measured for dry matter, soluble protein and gross energy content. Following the chemical analysis, the true digestibility of dry matter (TDDM), true digestibility of soluble protein (TDSP) and apparent metabolizable energy (AME) were determined. Data was analyzed with one-way ANOVA, followed by Duncan's Multiple Range Test. The result of the research showed that, from OF-0 to OF-72, the percentage of crude protein, soluble protein and the total of 14 amino acids respectively increased into 191, 112 and 246%. From OF-72 to OF-144, the nutrients content relatively unchanged, except soluble protein and several amino acids were considerably increased. The value of TDDM and AME were non-significantly changed from OF-0 to OF-72, and then significantly decreased ($P<0.05$) on OF-144. The value of TDSP significantly increased ($P<0.05$) from OF-0 to OF-72, and then non-significantly decreased on OF-144.

(Key words: Cassava pomace, Fermentation, *Aspergillus oryzae*, Digestibility, Bioavailability energy, Broiler).

Pendahuluan

Onggok adalah limbah padat berupa ampas dari pengolahan ubikayu menjadi tapioka, yang apabila didiamkan dalam beberapa hari akan menimbulkan bau asam dan busuk yang bersifat mencemari lingkungan (Balitnak, 1994). Produksi ubikayu Indonesia menempati urutan ke 4 terbesar setelah Nigeria, Brazil dan Thailand. Pada tahun 2002, produksi ubi kayu Indonesia mencapai 16,9 juta ton dengan luas areal 1,27 juta ha, yang sebagian besar diserap industri tapioka, sehingga setiap tahun tidak kurang dari 1,2 juta ton onggok dihasilkan (Anonim, 2003). Nutrien utama onggok adalah karbohidrat yaitu 60-70% (Tisnadjaja, 1996), dengan komponen utama berupa pati (Judoamidjojo *et al.*, 1992). Nutrien lain yang harus diperhitungkan apabila onggok digunakan sebagai bahan pakan unggas adalah tingginya serat kasar, rendahnya protein, rendahnya kecernaan (Puslitbangnak, 1996), dan adanya senyawa anti-nutrisi (Suliantari dan Rahayu, 1990). Perlakuan fermentasi mikrobiologik dapat meningkatkan kandungan protein, perbaikan kecernaan serta munculnya berbagai asam amino, enzim dan vitamin Muljohardjo (1988), Haris dan Karmas (1989) dan Judoamidjojo *et al.* (1992).

Onggok merupakan limbah industri yang sangat potensial digunakan dalam *solid-state fermentation* (SSF) (Djide, 1990; Judoamidjojo *et al.*, 1992; Silalahi *et al.*, 1993; Balitnak, 1994), serta mampu menghasilkan enzim ekstra seluler

;pergillus oryzae:
TENT,

acids, digestibility
mented aerobically
'-72) and 144 (OF-
les of OF-0, OF-72,
in, amino acids and
l for 24 hours, then
F-144 material-test
being force-fed, all
creta samples were
chemical analysis,
'DSP) and apparent
ANOVA, followed
OF-0 to OF-72, the
ively increased into
unchanged, except
f TDDM and AME
reased (P<0.05) on
'-72, and then non-

ae, Digestibility,

Nutrien lain yang
ι onggok digunakan
; adalah tingginya
rotein, rendahnya
1996), dan adanya
ntari dan Rahayu,
asi mikrobiologik
ndungan protein,
nunculnya berbagai
tamin Muljohardjo
mas (1989) dan

mbah industri yang
dalam *solid-state*
1990; Judoamidjojo
93; Balitnak, 1994),
enzim ekstra seluler

dan biomasa yang mengandung semua asam amino yang dibutuhkan hewan (Wainwright, 1992). *Aspergillus oryzae* merupakan mikroba amilolitik (Djide, 1990; Terebiznik *et al.*, 1996) sekaligus selulolitik (Rapper and Fennel, 1977). Fermentasi dengan *A. oryzae* mampu meningkatkan protein sejati, menurunkan serat kasar (Hanim *et al.*, 1999) dan menghasilkan beberapa vitamin seperti asam pantotenat, inositol, tiamin, piridoksin, biotin dan vitamin B12 (Rapper and Fennel, 1977). Protein tepung ubikayu meningkat dari 0,12 menjadi 17% dengan fermentasi menggunakan *Candida tropicalis* (Balitnak, 1994), sedangkan dengan *A. niger* kandungan protein sejati onggok meningkat fantastis dari 2 menjadi 8% (Puslitbangnak, 1996), serta terbentuk *edible protein* dengan *Rhizopus oryzae* (Tanuwidjaja dan Anah, 1989).

Penelitian ini bertujuan mempelajari: 1) perubahan kandungan protein kasar, protein terlarut, dan asam amino pada onggok yang diberi perlakuan fermentasi substrat padat menggunakan *A. oryzae;* dan 2) ketersediaan energi-termetabolis, kecernaan sejati bahan kering dan kecernaan sejati protein terlarut onggok-fermentasi pada ayam broiler.

Materi dan Metode

Medium fermentasi

Onggok kering giling dicampur dengan air dengan perbandingan 1:1, dikukus selama 60 menit, kemudian didinginkan sampai mencapai suhu kamar. Selanjutnya onggok dicampur secara merata dengan 1% (w/w) urea dan 0,1% (v/w) medium Czapek's yang dimodifikasi (5 g $NaNO_3$, 1 g K_2HPO_4, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g KCl, 0,01g $FeSO_4.7H_2O$, 0,5 g $MgSO_4.7H_2O$ dalam 1000 ml akuades) berdasarkan bahan kering onggok.

Inokulum

Aspergillus oryzae diperoleh dari media agar miring koleksi Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, UGM diinokulasikan ke dalam 100 ml medium yang mengandung 1 g glukosa, medium Czapek's yang dimodifikasi dan 0,3 g $NaNO_3$. pH disesuaikan menjadi sekitar 4 dengan larutan HCl. Inkubasi dilakukan selama 24 jam dalam *erlenmeyer* pada suhu kamar. Penggandaan dilakukan dengan cara menginkubasikan 10% (v/v) inokulum cair dalam medium cair.

Inkubasi dan panen

Sepuluh persen (v/w) inokulum cair dicampurkan secara merata dengan substrat onggok, kemudian ditebarkan (ketebalan 2 cm) pada rak beralas strimin yang telah dicuci dengan deterjen yang dilanjutkan dengan alkohol 70%. Inkubasi aerobik dibuat dua macam yakni 72 dan 144 jam, yang dilanjutkan inkubasi anaerobik selama 48 jam. Pasca inkubasi anaerobik, onggok-fermentasi dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kadar air lebih kecil dari 15%, kemudian digiling dan disimpan dalam kantong plastik tertutup. Onggok-fermentasi diambil sampel dan dimasukkan dalam *freezer* untuk keperluan analisis laboratorium.

Uji ketersediaan energi dan kecernaan

Pengukuran pada uji ini menggunakan metode total koleksi. Dua belas ekor ayam broiler jantan umur 12 minggu secara acak dimasukkan dalam kandang batere individual yang di bawahnya telah dilengkapi dengan penampung ekskreta. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap pola searah (RAL) dengan tiga macam perlakuan pakan-uji berupa onggok non-fermentasi (OF-0), onggok-fermentasi 72 (OF-72), dan 144 jam (OF-144). Setiap perlakuan digunakan 3 ekor ayam sebagai ulangan.

Mengacu pada Lessire (1990), semua ayam dipuasakan selama 24 jam, mulai pukul 09.00. Pukul 09.00 hari berikutnya, dilakukan pelolohan basah pakan-uji yang sebelumnya telah digiling halus, dicampur dengan air dengan perbandingan 1:2 sampai terbentuk pasta. Kuantitas pelolohan sekitar 80 g/ekor terhadap sembilan ekor ayam. Tiga ekor ayam sisanya tidak diberi pakan sama sekali, untuk mengetahui protein endogen. Semua ayam dipuasakan lagi sambil dilakukan koleksi ekskreta selama dua kali 24 jam. Ekskreta-terkoleksi dikeringkan di bawah sinar matahari selama tiga hari, ditimbang untuk mengetahui kuantitas ekskreta, digiling, dibungkus dalam plastik dan dimasukkan *freezer*.

Sampel ekskreta-terkoleksi dan pakan-uji diukur besarnya kandungan bahan kering (*dry matter*, DM), *gross energy* (GE) menggunakan bom kalorimeter otomatis "Gallenkamp Autobomb", dan protein terlarut menggunakan metode Folin-Lowry. Penghitungan *apparent metabolizable energy* (AME), *true digestibility of dry matter* (TDDM) dan *true digestibility of soluble protein* (TDSP) berturut-turut menggunakan rumus :

$$AME = GE_{pakan-uji} - \left(\frac{DM_{ekskreta}}{DM_{intake}}\right) x\, GE_{ekskreta}$$

$$\%TDDM = \frac{\left[DM_{intake} - (DM_{ekskreta} - DM_{endogen})\right]}{DM_{intake}} x100$$

$$\%TDSP = \frac{\left[SP_{intake} - (SP_{ekskreta} - SP_{endogen})\right]}{SP_{intake}} x100$$

Keterangan: endogen berasal dari ekskreta-terkoleksi ayam yang tidak diberi pakan-uji.

Analisis statistik

Untuk mengetahui perbedaan nilai AME, TDDM dan TDSP antara perlakuan OF-0, OF-72 dan OF-144 dilakukan analisis variansi RAL pola searah, yang dilanjutkan dengan uji Duncan's (Gill, 1981).

Analisis nutrien

Analisis kandungan air menggunakan teknik pemanasan 105°C, sedangkan protein kasar menggunakan metode Kjeldahl (AOAC, 1990). Penentuan kandungan protein terlarut menggunakan metode Folin-Lowry dengan larutan standar *bovine serum albumin* (BSA) yang ditera dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 590 nm (Sudarmadji *et al.*, 1984).

Kandungan asam amino diukur dengan teknik HPLC. Sampel bahan dihidrolisis dengan HCl 6N pada suhu 110°C selama 24 jam dan direaksikan dengan reagen *ortho phetaldialdehyde* (OPA) selama 5 menit, kemudian diijeksikan pada rangkaian HPLC. Perlakuan yang sama dilakukan pada larutan asam amino standar yang telah diketahui konsentrasinya. Jenis asam amino ditentukan dengan membandingkan waktu retensi dan profil grafik serapan larutan sampel dengan larutan asam amino standar pada HPLC. Konsentrasi masing-masing asam amino sampel diperoleh dengan rumus:

$$\%\ \text{asam amino} = \frac{\left\{\left[\frac{(A x K / B)}{C}\right] x D\ x E x F\right\}}{\text{berat sampel}\ (\mu g)}$$

A= luas area puncak larutan sample; B= luas area puncak larutan asam amino standar; C= volume injeksi larutan sampel (l); D= konsentrasi larutan asam amino standar (mol/ml); E= tingkat pengenceran sampel (10 ml); F= berat molekul asam amino (g/mol); K= volume injeksi larutan asam amino standar (l).

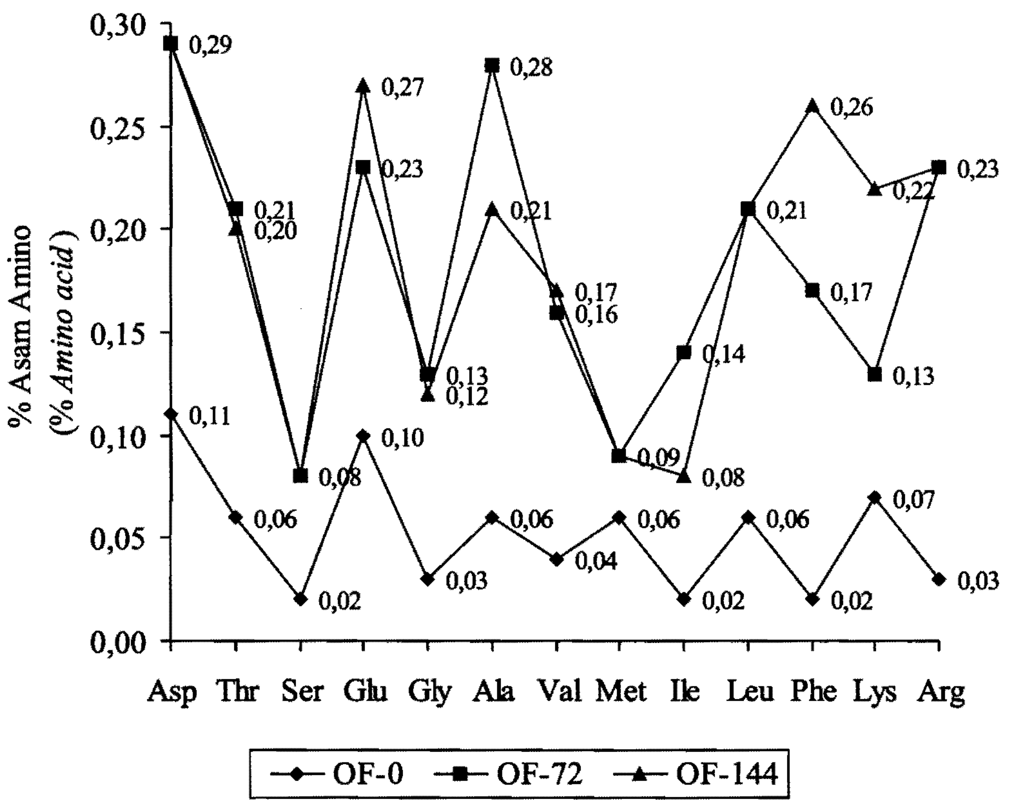
Hasil dan Pembahasan

Protein dan asam amino

Kandungan protein kasar, protein terlarut, dan 14 asam amino onggok non-fermentasi (OF-0), OF-72, dan OF-144 terlihat pada Tabel 1.

Persentase protein kasar, protein terlarut dan jumlah 14 asam amino meningkat tajam setelah onggok terfermentasi selama 72 jam, kemudian terjadi peningkatan sedikit dengan penambahan waktu inkubasi menjadi 144 jam, kecuali protein terlarut yang masih meningkat tajam.

Peningkatan protein kasar, protein terlarut dan jumlah 14 asam amino berturut-turut sebesar 191, 112, dan 246% pada onggok yang difermentasi 72 jam.

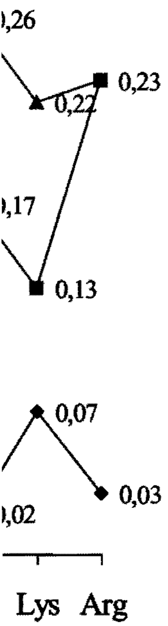


Gambar 1. Profil 14 Asam amino pada onggok yang diberi perlakuan fermentasi substrat padat dengan lama inkubasi 0 (OF-0), 72 (OF-72), dan 144 jam (OF-144). (*Profile of 14 amino acids in cassava pomace treated by solid-substrate fermentation for 0 (OF-0), 72 (OF-72), and 144 hours (OF-144) incubation).*

Tabel 2. TDDM, TDSP, dan AME onggok non-fermentasi (KTRL), OF-72, dan OF-144 pada ayam broiler jantan umur 12 minggu *(TDDM, TDSP, and AME in non-fermented cassava pomace* (KTRL), *OF-72, and (OF-144) on 12 weeks old of broiler roasters)*

Variabel (*Variables*)	Pakan-uji (*material-test*)		
	OF-0	OF-72	OF-144
TDDM, %	73,70 ^{a}	72,31 ^{a}	60,55 ^{b}
TDSP, %	41,67 ^{b}	72,15 ^{a}	58,53 ^{ab}
AME, kcal/kg	2895 ^{a}	2952 ^{a}	2393 ^{b}

^{ab} Superskrip pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) (*means within the same row with different superscript are significant differences (P<0.05)).*



ısi substrat padat
'e of 14 amino
(OF-0),

an OF-144 pada
ented cassava
ɪasters)

OF-144
60,55 [b]
58,53 [ab]
2393 [b]

(means within the

ISSN 0126-4400

144 jam, TDDM dan AME mengalami penurunan nyata (P<0,05), sedangkan TDSP menurun secara tidak nyata.

Secara statistik menunjukkan bahwa proses fermentasi selama 72 jam tidak mengubah kecernaan *in vivo* bahan kering (TDDM) dan ketersediaan energi (AME) bagi ayam. Penurunan nyata TDDM dan AME terjadi setelah inkubasi ditambah menjadi 144 jam. Hal ini mungkin disebabkan jamur telah banyak yang membentuk spora. Seperti diketahui, sel spora mempunyai rigiditas yang tinggi (Hutagalung, 1977 yang disitasi Sinurat *et al.*, 1995) sehingga menurunkan kecernaan maupun ketersediaan energi-termetabolis bagi ayam.

Peningkatan nyata kecernaan protein terlarut (TDSP) akibat proses fermentasi 72 jam (KTRL menjadi OF-72) selaras dengan Surisdiarto (1999) yang melaporkan peningkatan kecernaan protein kasar pakan ayam petelur akibat substitusi 100% bekatul dengan fermentasi campuran onggok dan kotoran ayam. Zyla *et al.* (2000) juga melaporkan adanya penurunan viskositas digesta dan ketersediaan fosfor bukan fitat pada pakan berbasis gandum yang disuplementasi miselium jamur *A. niger*. Penurunan viskositas digesta merupakan indikasi menurunnya polisakarida bukan pati, suatu karbohidrat yang tidak dapat dicerna ayam. Selanjutnya disebutkan bahwa miselium jamur kaya akan enzim-enzim intraseluler dan *membrane bound* yang dapat meningkatkan ketersediaan nutrien pakan di saluran pencernaan. Pada fermentasi 72 jam, jamur dalam fase pertumbuhan cepat dengan sel berbentuk miselium.

Kesimpulan

Fermentasi onggok menggunakan *A. oryzae* selama 72 jam mengakibatkan kandungan protein kasar, protein terlarut dan jumlah 14 asam amino mengalami peningkatan berturut-turut sebesar 191, 112 dan 246%. Penambahan inkubasi menjadi 144 jam tidak mengubah kandungan protein kasar, kecuali protein terlarut dan beberapa asam amino yang masih menunjukkan peningkatan yang tinggi.

TDDM dan AME tidak berubah dengan fermentasi 72 jam, sedangkan TDSP meningkat. TDDM dan AME menurun setelah inkubasi ditambah menjadi 144 jam, sedangkan TDSP berubah.

Daftar Pustaka

Anonim. 2003. Produksi Tanaman Padi dan Palawija di Indonesia. Biro Pusat Statistik. Jakarta.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

Balitnak. 1994. Pemanfaatan Limbah Pertanian dan Limbah Pengolahan Tapioka/Sagu sebagai Pakan Ternak. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 4: 7.

Djide, N. 1990. Isolasi dan karakterisasi kapang pemecah pati dari limbah pabrik tapioka: kondisi optimum produksi enzim pemecah pati. Bulletin Pascasarjana Seri Sains, 4: 48-55.

Ghanem, K. M., A. H. El-Refai and M. A. El-Gazaerly. 1991. Protein-enriched feedstuff from beet pulp. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 7: 365-371.

Gill, J. L. 1981. Design and Analysis of Experiments in The Animal and Medical Sciences. Volume 1. Iowa State University Press. Ames, Iowa.

Hanim, C., Z. Bachrudin, dan Ali-Agus. 1999. Evaluasi nilai nutrisi bungkil inti kelapa sawit yang difermentasi dengan jamur. Buletin Peternakan, 23(2): 81-87.

Haris, R. S. dan E. Karmas. 1989. Evaluasi Gizi pada Pengolahan Pangan. Terbitan ke-2. Penerbit ITB. Bandung.

Hrubant, G. R. 1985. Fermentative upgrading of wastes for animal feeding. in wood, b. j. b. microbiology of fermented foods. Elsevier Applied Science Publishers, 2:113-131.

Jay, J. M. 1986. Food Microbiology. 8th ed. Van Nostrand Rienhold. New York.

Judoamidjojo, M., A. A. Darwis, dan E. G. Said. 1992. Teknologi Fermentasi. Rajawali Pers. Jakarta.

Lessire. 1990. Effect of the feeding technique: ad libitum, dry or wet force feeding on the metabolizable energy value of raw materials for poultry. Brit. Poult. Sci., 31: 785-743.

Mendoza, N. S., M. Arai, T. Kawaguchi, F. S. Cubol, E. G. Panerio, T. Yoshida, and L. M. Jonson. 1994. Isolation of mannan-utilizing bacteria and the culture conditions for mannanase production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 10(1): 51-54. Abstr.

Merican, Z. and Q. L. Yeoh. 1989. Tapai Processing in Malaysia: A Technology in Transition. In K.H. Steinkraus. Industrialization of Indigenous Fermented Foods. Marcel Dekker Inc. New York.

Muljohardjo, M. 1988. Teknologi Pengawetan Pangan. 3th ed. Terjemahan. UI Press. Jakarta.

Puslitbangnak. 1996. Potensi ampas sagu fermentasi dan manfaatnya untuk unggas. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2(18): 9-12.

Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. PAU-IPB. Bogor.

Rapper, K.B. and D.I. Fennel. 1977. The Genus Aspergillus. Robert, E Krieger Publ. Co. Huntington, New York.

Silalahi, M., D. Aritonang, J. D. Darma, Tresnawati, dan T. Haryati. 1993. Pemanfaatan ampas singkong terfermentasi dalam ransum babi. Bulletin Peternakan, edisi khusus : 185-193.

Sinurat, A. P., P. Setiadi, A. Lasmini, A. R. Setioko, T. Purwadaria, I. P. Kompiang dan J. Darma. 1995. Penggunaan cassapro (singkong terfermentasi) untuk itik petelur. Ilmu dan Peternakan, 8(2): 28-31.

Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Penerbit Liberty. Yogyakarta.

Suliantari dan W. P. Rahayu. 1990. Teknologi Fermentasi Biji-bijian dan Umbi-umbian. PAU-IPB. Bogor.

Surisdiarto, H. 1999. Penggunaan fermentasi campuran onggok dan kotoran ayam sebagai pengganti bekatul dalam pakan ayam petelur. Buletin Peternakan, 23(1): 7-14.

Tanuwidjaja and Anah. 1989. Protein enrichment of cassava solid waste by SSF. In Howghee, A., Hen, N.B. and L.K. Kong (eds). Trends in Food Biotechnology. Proceedings of The 7th Word Congress of Food Science and Technology. 25-28.

Terebiznik, M. R., A. M. R. Pilosof, and S. Moreno. 1996. Effective purification procedure of *Aspergillus oryzae* alfa-amylase from solid state fermentation cultures including concanavalin a-sepharose. J. Biochemistry, 19: 341-354.

Tisnadjaja, J. 1996. Pemanfaatan bahan berpati sebagai bahan baku dalam industri asam sitrat. Warta Biotek, 1(10): 3-5.

Wainwright, M. 1992. An Introduction to Fungal Biotechnology. John Wiley and Sons, Ltd. Baffins Lane, Chichester.

Zyla, K., A. Wikiera, J. Koreleski, S. Swiatkiewicz, J. Piironen, and D.R. Ledoux. 2000. Comparison of the efficacies of a novel *Aspergilllus niger* mycelium with separate and combined effectiveness of phytase, acid phosphatase, and pectinase in dephosphorylation of wheat-based feeds fed to growing broilers. Poultry Sci. 79:1434-1443.

KEBERADAA
PEN

Penelitian i
baku Industri Peng
dan keuntungan s
dilakukan di Kecar
adalah 160 petern
Pemilikan satu san
satu sampai tiga U
sapi laktasi < 70%
dianalisis dengan r
hanya strata 4 ya
kompetitif, sedang
yang sekaligus me
yang mempunyai l
komparatif adalah
mencapai keuntun
segar di tingkat ko
naik > 34%, serta a
apabila nilai tukar
susu impor turun d

(Kata kunci

[1]Fakultas Peternak
[2]Fakultas Pertania