

Analisis Kadar Gula Reduksi pada Fermentasi Kacang Gude (*Cajanus cajan*) oleh *Aspergillus niger*

Pujiati*, C. Novi Primiani

Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Matematika dan IPA IKIP PGRI Madiun

*Corresponding author: poesky86@gmail.com / primianibiomipa@yahoo.com

Abstract: Pigeonpea (*Cajanus cajan*) is a tropical legume grown mainly in Indonesia. Though largely considered an orphan crop, pigeonpea has a huge untapped potential for improvement both in quantity and quality of yield. Pigeonpea seeds contain 65 % starch. Based on its starch level can be use as substrate of solid-state fermentation. Solid-state fermentation using *Aspergillus niger* because they have amylolytic and cellulolytic activity and not produce micotoxin. This study was carried out to know the change reducing sugar level of fermenting pigeonpea as to know a success of fermentation process. Completely randomized design was used, data result were analyzed with ANOVA, then were continued with Least Significant Difference. Different parameters such as inoculums concentration and incubation time. Inoculum concentration of 2 mL/g and incubation time of 72 hours give the best result of 12,50%.

Keywords: solid state fermentation, glucose reduction, proteolitic, pigeon pea

1. PENDAHULUAN

Dunia dihadapkan dengan adanya krisis energi yaitu menipisnya sumber daya dan meningkatnya masalah lingkungan (Shivani et.al., 2011:18210). Permintaan energi untuk transportasi dan proses industri mendorong pencarian sumber energi terbarukan untuk mengganti bahan bakar fosil yang semakin menipis (Sartory et.al., 2015:1). Bioethanol merupakan salah satu energi terbarukan yang dibuat secara biologis dari biomasa selulosa (Lalitha and Rajeshwari, 2011:16). Biodiesel adalah pengganti utama untuk bahan bakar fosil, karena ramah lingkungan dan dapat diperbarui (Xiaojuan et.al., 2011:122). Biodiesel dapat dibuat dari minyak nabati baik minyak baru maupun minyak bekas melalui proses transesterifikasi (Hambali dkk., 2007:8-9). Minyak nabati biasanya diekstrak dari biji dan kacang-kacangan dengan tekanan mekanis atau tekanan pelarut (Lean, 2013:115).

Kacang gude (*Cajanus cajan*) adalah salah satu contoh legum yang penting pada daerah sub-tropis karena dapat beradaptasi baik terhadap masa kekeringan dan juga dapat tumbuh di lahan marginal serta tidak banyak membutuhkan asupan nutrisi (Alexander et.al., 2007:1). Kebanyakan legum dapat beradaptasi pada beberapa daerah, kacang gude memiliki kombinasi unik yaitu kandungan nutrisi optimal, toleransi tinggi terhadap stres lingkungan, produktivitas biomasa tinggi dan nutrisi serta kelembaban yang baik untuk tanah (Odeny, 2007:297). Kacang gude dapat tumbuh sebagai tanaman tahunan di pekarangan rumah dan dikonsumsi sebagai biji perpecahan terkupas atau dalam bentuk biji hijau sebagai sayuran (Sharma

et.al., 2011:92). Biji kering memiliki beberapa produk yaitu tempe dan kecap. Tepung kacang gude dicampur dengan gandum untuk meningkatkan kadar protein produk makanan yang dipanggang (Orwa et.al., 2009:3).

Biji kacang gude adalah legum yang dilaporkan mengandung 20-22% protein, 1,2 % lemak, 65% karbohidrat and 3,8% abu (Sharma et.al., 2011:92). Kacang gude merupakan sumber mineral yang baik seperti kalsium, fosfor, magnesium, zat besi, sulfur, kalium, serta mengandung vitamin larut air seperti tiamin, riboflavin, niasin dan kolin (Akande et.al., 2010:63). Penelitian terakhir menyatakan bahwa kacang gude mengandung fitoestrogen yang dapat digunakan sebagai antikanker (Kunia, dalam Dewi, 2010:9). Kandungan gizi kacang gude cukup tinggi sehingga dapat digunakan untuk makanan, pakan ternak dan obat herbal (Sharma et.al., 2011:94). Kadar karbohidrat kacang gude cukup tinggi, sehingga cocok digunakan sebagai substrat dalam proses solid state fermentation.

Fermentasi adalah teknik konversi biologi dari substrat yang kompleks menjadi komponen yang lebih sederhana oleh mikroorganisme yaitu bakteri dan fungi (Eze et.al., 2014:138). Metode fermentasi terbagi menjadi dua yaitu fermentasi terendam (SmF) dan fermentasi padat (SSF) (Martins et.al., 2011:367). Solid state fermentation (SSF) dapat didefinisikan sebagai fermentasi padat dengan keadaan bebas air, tetapi substrat harus mempunyai kelembaban yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme (Imandi et.al., 2010:28). SSF memiliki banyak kelebihan daripada SmF, yaitu penggunaan tempat ekonomis yang dibutuhkan untuk media fermentasi, hasil panen tinggi dan tidak membutuhkan mesin



yang rumit (Falony et.al., 2006:236). Kapang dapat beradaptasi dengan baik daripada yeast and bakteri untuk tumbuh dalam metode SSF (Sanchez et.al., 2015:1). Fungi berfilamen mendapat perhatian yang lebih besar karena kemampuannya memproduksi enzim termotabil bernilai ilmiah dan komersial tinggi, seperti amilase, selulase, protease dan lipase (Martins et.al., 2011:368).

Amilase merupakan enzim penting yang digunakan dalam proses industri bahan berpati untuk menghidrolisis polisakarida yaitu pati menjadi gula sederhana (Omemu et.al., 2004:19). Selulase dapat digunakan untuk produksi bioethanol melalui proses hidrolisis yang mampu memecah polisakarida menjadi monomer gula penyusunnya (Kodri dkk., 2013:36). *Aspergillus niger* telah ditemukan memiliki aktivitas amilase terbaik (Khan and Sachin, 2011:100) dan produksi selulase tertinggi (Khan and Sumit, 2011:179) melalui proses solid state fermentation. *Aspergillus niger* merupakan kapang berfilamen yang potensial untuk fermentasi karena memiliki aktivitas amilolitik dan selulolitik serta tidak memproduksi mikotoksin. Penelitian dilaksanakan untuk mengetahui perubahan kadar gula reduksi pada fermentasi kacang gude menggunakan metode Luff Schoorl.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan mentah dan biakan kapang

Kacang gude (*Cajanus cajan*) dikumpulkan dari pasar tradisional di Madiun, Ponorogo dan Magetan, dan kemudian dihaluskan menggunakan mesin penghalus tepung. Strain *Aspergillus niger* diperoleh dari koleksi biakan kapang di Laboratorium Biologi, IKIP PGRI Madiun.

Persiapan inokulum dan substrat

Pembuatan inokulum dilakukan dengan memasukkan 1 ose biakan *Aspergillus niger* ke dalam medium yang berisi air steril 500 ml, glukosa 10 g, KH_2PO_4 1,5 g and MgSO_4 0,75 g, kemudian dishaker menggunakan rotator orbital 180 rpm selama 20 menit. Inokulum diinkubasi 24 jam, kemudian digunakan sebagai inokulum dalam fermentasi.

Lima puluh gram substrat tepung kacang gude dimasukkan dalam botol steril 500 mL dan menambahkan 75 mL air fisiologis lalu digoyang-goyangkan, dan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dingin, media dapat digunakan untuk substrat fermentasi.

Solid state fermentation

Media steril diinokulasi dengan konsentrasi inokulum berbeda, 0 mL/g (P0), 0,2 mL/g (P1), 0,4 mL/g (P2), 0,6 mL/g (P3), kemudian dishaker dengan rotator orbital 180 rpm selama 30 menit. Media fermentasi dinkubasi dalam waktu inkubasi 0 jam (K0), 24 jam (K1), 48 jam (K2), 72 jam (K3), 96 jam (K4) dan 120 jam (K5).

Metode analisis kadar gula reduksi

Analisis perubahan kadar gula reduksi pada substrat menggunakan metode Luff Schoorl. Lima gram substrat fermentasi diambil dari botol tiap 24 jam, kemudian ditambah 50 mL air distilasi dan dicampur merata. Suspensi dicentrifuge pada 4000 rpm selama 20 menit, dan supernatan digunakan untuk menguji kadar gula reduksi. Pipet 10 mL supernatan ke labu didih kemudian tuangkan 10 mL reagen Luff Schoorl. Sampel dididihkan pada refluks selama 10 menit, kemudian tambahkan 6 mL KI 20% and 10 mL H_2SO_4 dengan hati-hati melalui dinding labu. Titrasi sampel dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N hingga berwarna kuning, lalu tambah amilum 1% titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang. Buat blanko titrasi menggunakan air sebagai pengganti sampel. Kadar gula reduksi dihitung dengan rumus :

$$\text{Gula reduksi (\%)} : \frac{AT \times Fp}{\text{berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Where :

AT= angka tabel Luff Shoorls

Fp= faktor pengenceran

Analisis statistik

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap, hasil data dianalisis menggunakan ANOVA, kemudian diuji lanjut menggunakan uji lanjut BNT.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata kadar gula reduksi pada fermentasi kacang gude (*Cajanus cajan*) menggunakan solid state fermentation oleh kapang *Aspergillus niger* dengan perlakuan berbeda yaitu konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi ditunjukkan pada Tabel 1.

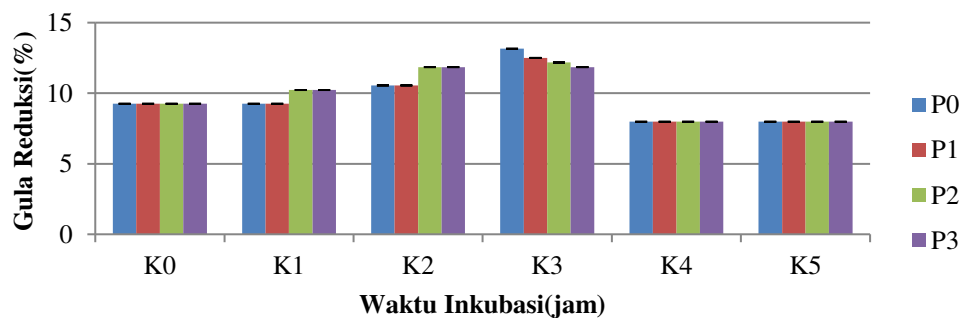
Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar gula reduksi pada fermentasi kacang gude pada 24 jam masih rendah dan meningkat pada 48 jam kemudian menurun pada 96 jam. Pengaruh konsentrasi inokulum 0,2 mL/g (P1) diketahui memiliki kadar gula reduksi tertinggi daripada perlakuan lainnya. Pengaruh waktu inkubasi pada 72 jam (K3) diketahui memiliki kadar gula reduksi tertinggi daripada perlakuan lainnya.

Tabel 1. Rata-rata kadar gula reduksi pada fermentasi kacang gude (*Cajanus cajan*)

Perlakuan	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
K ₀	9,25 ± 0,00	9,25 ± 0,00	9,25 ± 0,00	9,25 ± 0,00
K ₁	9,25 ± 0,00	9,25 ± 0,00	10,23 ± 0,46	10,23 ± 0,46
K ₂	10,55 ± 0,00	10,55 ± 0,00	11,85 ± 0,00	11,85 ± 0,00
K ₃	13,15 ± 0,00	12,5 ± 0,92	12,18 ± 0,46	11,85 ± 0,00
K ₄	7,98 ± 0,00	7,98 ± 0,00	7,98 ± 0,00	7,98 ± 0,00
K ₅	7,98 ± 0,00	7,98 ± 0,00	7,98 ± 0,00	7,98 ± 0,00

Kadar gula reduksi selama proses solid state fermentation pada fermentasi kacang gude oleh *Aspergillus niger* ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil yang ditunjukkan Gambar 1 menyatakan bahwa kadar gula reduksi tertinggi diperoleh pada konsentrasi inokulum 0,2 mL/g dan waktu inkubasi 72 jam (P1K3) sebesar 12,50%, sedangkan untuk 96 jam dan 120 jam pada masing-masing konsentrasi inokulum sebesar 7,98% memberikan kadar gula reduksi terendah. Pada waktu inkubasi 0 jam hingga 72 jam mengalami peningkatan dan menurun setelah 96 jam dari hasil kadar gula reduksi. Aktivitas

amilase dan selulase mengalami perubahan karena semakin rendah tingkat konsentrasi inokulum memberikan biomasa yang cukup sehingga mereduksi pembentukan produk, sedangkan tingkat konsentrasi inokulum tertinggi memungkinkan dalam memproduksi biomasa yang lebih banyak sehingga pembentuk produk semakin rendah (Imandi et.al., 2010:29). Hidrolisis enzim merupakan hidrolisis amilum dan selulase menjadi glukosa. Glukosa kemudian digunakan sebagai energi oleh kapang *Aspergillus niger* untuk metabolisme dan pertumbuhannya (Gandjar dkk., 2006:44).

Gambar 1. Kadar gula reduksi pada fermentasi kacang gude selama solid state fermentation oleh *Aspergillus niger*

Aspergillus niger adalah kapang berfilamen yang dapat memproduksi ekstraseluler enzim, khususnya amilase, selulase, protease dan lipase melalui proses solid state fermentation (Martins et.al., 2011:368). Hasil yang sama dilaporkan oleh Omemu et.al. (2005) bahwa jumlah tertinggi gula reduksi bahan berpati pada 72 jam. Rahmawati (dalam Lestari dan Wahono, 2015:28) menyatakan bahwa semakin lama fermentasi menyebabkan peningkatan dalam pembentukan kadar gula reduksi khususnya pada 48 jam atau 72 jam inkubasi. Kadar gula reduksi mengalami peningkatan karena kapang berfilamen mengalami fase log, sedangkan pada 24 jam kadar gula reduksi belum meningkat karena mikroorganisme masih beradaptasi. Selain itu, semakin lama waktu hidrolisis menyebabkan jumlah substrat menurun karena sudah banyak yang dihidrolisis. Glukosa yang dihasilkan menurun atau tetap (Kodri dkk., 2013:41).

4. KESIMPULAN

Kacang gude (*Cajanus cajan*) merupakan legum daerah tropis yang potensial dalam memperbaiki kuantitas dan kualitas. *Aspergillus niger* sebagai produsen enzim ekstraseluler amilase dan selulase terbaik melalui solid state fermentation. Solid state fermentation dapat meningkatkan kadar gula reduksi pada fermentasi kacang gude. Hasil kadar gula reduksi tertinggi diperoleh pada konsentrasi inokulum 0,2 mL/g (P1) dan waktu inkubasi 72 jam (K3).

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada lembaga IKIP PGRI Madiun dalam memenuhi kebutuhan fasilitas hingga dapat melaksanakan

penelitian dan semua orang yang terlibat dalam penelitian.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Akande, Abubakar, Adegbola, Bogoro and Doma. 2010. Chemical Evaluation Of The Nutritive Quality Of Pigeon Pea (*Cajanus cajan*). *International Journal Of Poultry Science*. Vol : 9(1).
- Alexander, Ravi, Ramak Ristina Reddy, Saxena, Hanson, Upadhyaya and Blummel. 2007. Foerage Yield and Quality in Pigeonpea Germplasm Line. *An Open Acces Journal* Vol :3 (1).
- Dewi, Intan Wahyu Ristisa. 2010. Karakteristik Sensoris Kacang Gude (*Cajanus cajan*) dan Tempe Kacang Tunggak (*Vigna unguiclata*) Dengan Berbagai Variasi Waktu Fermentasi.
- Eze, Onwuakor, and Ukeka. 2014. Proximate Composition, Biochemical and Microbiological Changes Associated With Fermenting African Oil Bean (*Pentaclethra macrophylla* Benth.) Seeds. *American Journal Of Microbiological Reserach*. Vol : 2.
- Falony, Gween, Jhony Coca Armas, Julio C. Dustet Mendoza and Jose L. Martinez Hernandez. 2006. Production of Extracelluar Lipase From *Aspergillus niger* by Solid State Fermentation. *Journal Food Technology*. Biotechnology Vol : 44.
- Gandjar, Indrawati, Wellyzar, Sjamsuridzal dan Ariyanti Oetari. 2006. *Mikrobiologi Dasar Dan Terapan*. Jakarta : Yayasan Obor Indonesia.
- Hambali, Erliza, Siti Mudjalipah, Armsansyah Halomoan Tumbunan, Abdul Waries Pattiwiri, Roy, Hendroko. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Imandi, Sarat Babu, Sita Kumari Karanam and Hanumantha Rao Garupati. 2010. Optimization of Proces Parameters for the Production of Lipase in Solid State Fermentation. *Journal Microbial Biochemeistry Thecnology*. Vol:02.
- Khan, Jahir Alam and Sachin Kumar Yadav. 2011. Production of Alpha Amylases by *Aspergillus niger* Using Cheaper Substrates Employing Solid State Fermentation. *International Journal of Plant, animal and Environmental Sciences*. Vol : 1(3).
- Khan, Jahir Alam and Sumit Kumar Singh. 2011. Production of Cellulase using chap Substates by Solid State Fermentation. *International Journal of Plant, animal and Environmental Sciences*. Vol : 1(3).
- Kodri, Bambang Dwi Argo dan Rini Yulianingsih. 2013. Pemanfaatan Enzim Selulase Dari *Trichoderma reseei* dan *Aspergillus niger* Sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi Dengan Pretreatment Microwave. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol: 1(1).
- Lalitha and Rajeshwari Sivaraj. 2011. Use of Fruit Biomass Peel Residue For Ethanol Production. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol: 2.
- Lean, Michael E. 2006. *Ilmu Pangan Gizi Dan Kesehatan. Terjemahan Oleh Nata Nilamsari Dan Astri Fajriyah*. 2013 Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Lestari, Dewi Prima dan Wahono Adi Susanto. 2015. Pembuatan Getuk Pisang Raja Nangka (*Musa paradisiaca*) Terfermentasi Dengan Kajian Konsentrasi Ragi Tape Singkong Dan Lama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol: 3(1).
- Martins, Silvia, Solange I. Mussato, Guilermo Martines-Aulia, Julio Martines-Saens, Cristobal N. Aguilar and Jose A. Teixeria. 2001. Bioactive Phenolic Compounds : Production and Extraction by Solid State Fermentation. A Review J. *Biotechnology Advances*. Vol : 29.
- Odeny, Damaris Achieng. 2007. The Potential of Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) in Africa. *Natural Resources Forum*. Vol : 31.
- Omemu, Alepan, Bankole and Teniola. 2004. Hydrolisis of Raw Tuber Starches By Amylases of *Aspergillus niger* AM07 Isolated From The Soil. *African Journal Of Biotechnology*. Vol: 4(1).
- Orwa, Mutua, Kindt, Jamnadass and Anthony. 2009. *Agrofores. Database : A tree Reference and Selection Guide*.
- Sanchez, Luis Beltran Ramos, Mario Cesar Cujilema Quitio, Maria Caridad Julian Ricardo, Jesus Cardova, Patrick Fikers. 2015. Fungal Lipase Production by Solid State Fermentation. *Journal Bioprocessing and Biotechniques*. Vol : 5 (2).
- Sartori, Tanora, Heloisa Tibolla, Elenizi Prigol, Luciane Maria Colla, Jorge Alberto Vieira costa and Telma Elita Berfolin. 2015. Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Residues by Cellulases Obtained From Solid State Fermentation by *Trichoderma viridie*. *Biomed Research International*.
- Sharma, Sheel, Nidhi Agarwal and Preeti Verma. 2011. Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.): A Hidden Treasure Of Regime Nutrition. *Journal Of Functional and Environmental Botany*. Vol: 1.
- Shivani, Patel, Patel Kustibu, Nilkanth Faldu, Vasudev Thakar and Shubramanion. 2011. Extraction and Analisis Of *Jatropha curcas* Seed Oil. *African Journal of Biotechnology* Vol :10(79).
- Xiaojuan, Shuyi, Yuangen, Jie, Ying Ying. 2011. Highly Efectife Extraction Of Oil From Soybean by Pretreatment Of Solid State Fermentation Whit Fungi. *Journal Chemical Science Engineering*. Vol 5.