



**POLITEKNIK  
NEGERI  
SRIWIJAYA**

**Ir. Sofiah, M.T  
Ir. Siti Chodijah, M.T.  
Ir. Jaksen, M.Si.**

# **BUKU AJAR**

## **PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES**



**JURUSAN TEKNIK KIMIA PROGRAM  
STUDI D-III TEKNIK KIMIA POLITEKNIK  
NEGERI SRIWIJAYA**

**BUKU AJAR  
PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES  
TK202103**



Oleh :

<b>Ir. Sofiah, M.T.</b>	<b>NIDN. 0027066207</b>
<b>Ir. Siti Chodijah, M.T.</b>	<b>NIDN. 0028126206</b>
<b>Ir. Jaksen, M.Si.</b>	<b>NIDN. 0004096205</b>

**JURUSAN TEKNIK KIMIA  
PROGRAM STUDI D-III TEKNIK KIMIA  
POLITEKNIK NEGERI SRIWIJAYA  
2026**

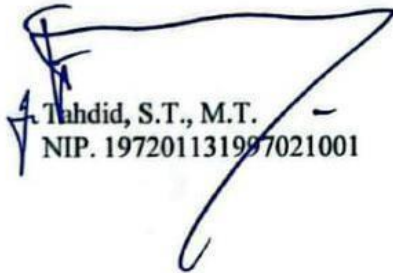
## HALAMAN PENGESAHAN BUKU AJAR

### PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES

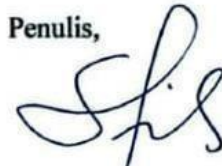
NAMA MATA KULIAH : PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES  
KODE MATA KULIAH : TK202103  
NAMA PENULIS/NIDN : Ir. Sofiah, M.T. / 0027066207  
: Ir. Siti Chodijah, M.T./0028126206  
: Ir Jaksen, M.Si. /0004096205  
JURUSAN/ PRODI : TEKNIK KIMIA/ D-III TEKNIK KIMIA

Palembang, 24 November 2025

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Teknik Kimia


  
Tahdid, S.T., M.T.  
NIP. 197201131987021001

Penulis,

  
Ir. Sofiah, M.T.  
NIP. 196206271989032001

Mengetahui,  
a.n. Direktur  
Wakil Direktur I  
  
Dr. Yusri, S.Pd., M.Pd.  
NIP. 197707052006041001

Menyetujui,  
Kepala Pusat Penjaminan Mutu dan  
Pengembangan Pembelajaran

  
Firdaus, S.T., M.T.  
NIP. 196305151989031002



## FORM PENILAIAN BUKU AJAR

NAMA MATA KULIAH : PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES  
KODE MATA KULIAH : TK202103  
NAMA PENULIS : Ir. SOFIAH, M.T.  
NIP/NIDN : 196206271989032001/0027066207  
JURUSAN/PRODI : TEKNIK KIMIA/D-III TEKNIK KIMIA  
SEMESTER : 1

### Unsur Penilaian

No.	Unsur Penilaian	Sangat Baik	Baik	Sedang	Cukup	Keterangan
1.	Kesesuaian CP-MK dengan CPL-Prodi	✓				
2.	Kesesuaian keluasan dan kedalaman materi MK		✓			
3.	Kesesuaian besar SKS-MK dan jam tatap muka MK	✓				
4.	Materi yang disajikan sesuai dengan kebutuhan <i>updating</i> mata kuliah		✓			

Bahan Ajar tersebut diatas sudah memenuhi unsur-unsur penelitian dan persyaratan untuk diajukan menjadi Bahan Ajar di Prodi D-III Teknik Kimia Politeknik Negeri Sriwijaya

Palembang, 24 November 2025

Reviewer KBK 1



Ir. Aisyah Suciningsih.  
NIP. 196902191994032002

## FORM PENILAIAN ISI BUKU AJAR

NAMA MATA KULIAH : PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES  
KODE MATA KULIAH : TK202103  
NAMA PENULIS : Ir. SOFIAH, M.T.  
NIP/NIDN : 196206271989032001/0027066207  
JURUSAN/PRODI : TEKNIK KIMIA/D-III TEKNIK KIMIA  
SEMESTER : 1

### Unsur Penilaian

No.	Unsur Penilaian	Sangat Baik	Baik	Sedang	Cukup	Keterangan
1.	Kesesuaian CP-MK dengan CPL-Prodi	✓				
2.	Kesesuaian keluasan dan kedalaman materi MK		✓			
3.	Kesesuaian besar SKS-MK dan jam tatap muka MK	✓				
4.	Materi yang disajikan sesuai dengan kebutuhan <i>updating</i> mata kuliah		✓			

Bahan Ajar tersebut diatas sudah memenuhi unsur-unsur penelitian dan persyaratan untuk diajukan menjadi **Buku Ajar** di Prodi D-III Teknik Kimia Politeknik Negeri Sriwijaya

Palembang, 24 November 2025

Palembang, 24 November 2025  
Reviewer KBK 2



Zurohani S.T., M.T.  
NIP. 196707181992032001

## FORM PENILAIAN ISI BUKU AJAR

NAMA MATA KULIAH : PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES  
KODE MATA KULIAH : TK202103  
NAMA PENULIS : Ir. SOFIAH, M.T.  
NIP/NIDN : 196206271989032001/0027066207  
JURUSAN/PRODI : TEKNIK KIMIA/D-III TEKNIK KIMIA  
SEMESTER : 1

Buku Ajar yang diusulkan sudah/belum memenuhi unsur – unsur :

1. Kesesuaian CP-MK dengan CPL-Prodi
2. Kesesuaian kelulusan dan kedalaman materi MK
3. Kesesuaian besar SKS-MK dan jam tatap muka MK
4. Materi yang disajikan sesuai dengan kebutuhan *updating* mata kuliah

Palembang, 24 November 2025

Reviewer KBK 1



Ir. Aisyah Suciningsih, M.T.  
NIP. 196902191994032002

Reviewer KBK 2



Zurolaina S.T, M.T.  
NIP. 196707181992032001

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Teknik Kimia



Tahdid, S.T., M.T.  
NIP. 197201131997021001

## FORM PENILAIAN FORMAT DAN KELENGKAPAN BUKU AJAR

No.	Kriteria	Penilaian			
		Sangat Baik	Baik	Cukup	Kurang
I.	Format				
	- Jumlah Halaman	✓			
	- Jarak Basis (spasi)		✓		
	- Font (Times New Roman)		✓		
II.	Kelengkapan Bahan Ajar				
	- Cover		✓		
	- Halaman Pengesahan		✓		
	- Daftar Pustaka		✓		
	- Silabus		✓		
	- Rencana Pembelajaran Semester		✓		
	- Capaian Pembelajaran		✓		

Saran – saran perbaikan :

.....  
 .....  
 .....

**Palembang, 24 November 2025**

Kepala Pusat Penjaminan Mutu dan  
Pengembangan Pembelajaran

  
 Firdaus, S.T., M.T.  
 NIP. 196305151989031002

## KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah bahwa atas petunjuk dan rahmat Allah SWT penyusunan Buku Ajar Praktikum Teknologi Bioproses ini dapat diselesaikan. Buku Ajar Praktikum ini dibuat sebagai acuan yang berisikan teori-teori yang berhubungan Teknologi Bioproses dan praktikum.

Penyusun menyadari masih banyak yang perlu disempurnakan dari modul yang telah disusun ini, dan juga perlu dilengkapi lagi agar sejalan dengan perkembangan teknologi dan kebutuhan industri di masa yang akan datang. Untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat diperlukan.

Akhir kata penyusun menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu hingga selesainya modul ini semoga modul praktikum ini dapat bermanfaat khususnya bagi mahasiswa D-3 Teknik Kimia Polsri.

Palembang, 24 November 2025



Penulis  
Ir. Sofiah. M.T



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>ix</b>
Sterilisasi 1 .....	1
Sterilisasi 2 .....	5
Pembuatan media.....	7
Pembiakan Mikroorganisme Dalam Media Agar .....	12
Isolasi dan Seleksi Mikroorganisme .....	14
Mengamati Objek Melalui Mikroskop .....	19
Penetapan Jumlah Sel Hidup dan Mati Dalam Ragi Kering.....	24
Penetapan Jumlah Sel Dengan Menggunakan Ruang Hitung.....	27
Fermentasi Tempe Kedelai Berwarna I.....	30
Fermentasi Tempe Kedelai Berwarna II.....	56
Pembuatan minyak kelapa secara fermentasi (VCO).....	73
Pembuatan yoghurt kedelai .....	90
Pembuatan alkohol (pisang/nanas) .....	100
Pembuatan kombucha.....	117
Pembuatan asam asetat.....	119
Pembuatan Nata De Coco.....	125
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>121</b>
<b>BIODATA PENULIS .....</b>	<b>132</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Instrument Yang Digunakan .....	3
Gambar 2. Api Bunsen .....	3
Gambar 3. Hot Air Oven.....	3
Gambar 4. Cara Menghitung Mikroorganisme dengan Ruang Hitung.....	28
Gambar 5 . Perhitungan Jumlah Bakteri .....	29
Gambar 6. Bunga Telang .....	31
Gambar 7. Sappan Wood (Serutan Kayu Secang) .....	33
Gambar 8. Suji Leaves (daun Suji).....	35
Gambar 9. Kedelai.....	45
Gambar 10. Rhizopus sp.....	49
Gambar 11. Siklus Hidup/Reproduksi Rhizopus sp.....	50
Gambar 12. Tempe .....	53
Gambar 13. Tempe Kemasan Daun pisang .....	54
Gambar 14. Tempe alami tempe pelangi .....	57
Gambar 15. Bunga Telang .....	59
Gambar 16. Klorofil.....	61
Gambar 17. Daun Bayam Merah .....	64
Gambar 18. Kelapa.....	73
Gambar 19. Pohon Kelapa.....	74
Gambar 20. Santan Kelapa .....	76
Gambar 21. Virgin Coconut Oil (Minyak Kelapa Murni) .....	80
Gambar 22. Bawan Putih .....	82
Gambar 23. Jeruk Nipis .....	84
Gambar 24. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	85
Gambar 25. Yogurt.....	91
Gambar 26. <i>Lactobacillus Bulgaricus</i> .....	94
Gambar 27. <i>Lactobacillus Casei</i> .....	95
Gambar 28. Susu Kedelai .....	96
Gambar 29. Pisang.....	101
Gambar 30. Bagian Pohon Pisang .....	103
Gambar 31. Ragi.....	105
Gambar 32. Gula.....	106
Gambar 33. Urea.....	107
Gambar 34. Proses dan alat destilasi .....	112
Gambar 35. Refraktometer.....	113

## CAPAIAN PEMBELAJARAN MATA KULIAH (CPMK)

NAMA MATA KULIAH : PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOPROSES

KODE MATA KULIAH : TK202103

NAMA PENULIS/NIDN : Ir. Sofiah, M.T. / 0027066207  
: Ir. Siti Chodijah, M.T./0028126206  
: Ir Jaksen, M.Si. /0004096205

JURUSAN/PRODI : TEKNIK KIMIA/D-III TEKNIK KIMIA

SEMESTER : 1

Kode	Capaian Pembelajaran Mata Kuliah
M1	<ul style="list-style-type: none"><li>• Pemakaian autoclave untuk proses sterilisasi.</li><li>• Teknik sterilisasi peralatan.</li><li>• Teknik sterilisasi media cair.</li></ul>
M2	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mahasiswa dapat melakukan teknik pengujian sterilisasi suatu alat</li><li>• Mahasiswa dapat menentukan tingkat keberhasilan steril/tidak suatu alat</li></ul>
M3	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dapat mengetahui dan membuat beberapa macam media yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya.</li></ul>
M4	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mengenalkan kepada mahasiswa teknik perlakuan aseptik, teknik pembiakkan mikroorganisme dalam media agar miring dan pengenceran dengan menggunakan media agar.</li></ul>
M5	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mahasiswa dapat mempelajari proses isolasi dan seleksi mikroorganisme</li></ul>
M6	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mengenalkan kepada mahasiswa cara pemakaian mikroskop untuk mengamati dan melihat berbagai bentuk serat, amilum, mikroorgamame dalam air, mikroorganisme dalam susu.</li></ul>
M7	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mahasiswa dapat menggunakan mikroskop</li><li>• Mahasiswa dapat membedakan sel ragi yang hidup dan sel ragi yang mati</li><li>• Mahasiswa dapat menghitung persentase sel ragi yang hidup dalam suatu suspensi mikroorganisme</li></ul>

M8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa dapat mempelajari cara menentukan konsentrasi sel melalui metoda penetapan jumlah sel dengan Counting Chamber</li> </ul>
M9	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mengetahui cara pembuatan produk tempe dari kedelai dengan proses fermentasi</li> <li>• Mengetahui bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan tempe</li> </ul>
M10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa dapat mengetahui proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi.</li> </ul>
M11	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa memahami prinsip dan dapat membuat produk yogurt susu kedelai menggunakan starter Lactobacillus casei yang dapat menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi terhadap susu kedelai</li> </ul>
M12	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa dapat melakukan teknik Fermentasi dari Bahan alam.</li> <li>• Mahasiswa dapat menentukan kondisi Operasi proses fermentasi.</li> <li>• Mahasiswa dapat melakukan analisis produk alkohol yang dihasilkan.</li> <li>• Mahasiswa dapat membuat produk dan menganalisis produk yang didapat dengan proses</li> </ul>
M13	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa dapat mengetahui proses fermentasi dalam pembuatan kombucha dari beberapa bahan.</li> </ul>
M14	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Membuat inokulum untuk bahan dasar pembuatan asam asetat.</li> <li>• Membiakan starter asam asetat dengan menggunakan mikroba.</li> <li>• Membuat asam asetat dengan fermentasi aerob.</li> <li>• Membandingkan produk asam asetat yang terbentuk dengan berbagai kondisi operasi.</li> <li>• Mengukur Volume Larutan, Densitas Larutan, dan Kadar Asam Asetat.</li> </ul>



<b>TBP</b>	<b>STERILISASI</b>	
------------	--------------------	---

#### **A. TUJUAN PERCOBAAN**

Mengenalkan kepada mahasiswa:

- Pemakaian autoclave untuk proses sterilisasi.
- Teknik sterilisasi peralatan.
- Teknik sterilisasi media cair.

#### **B. TEORI DASAR**

Sterilisasi adalah proses untuk mematikan semua mikroba dan merusak spora. Spora adalah sel yang tidak aktif yang lebih resistan terhadap panas dibandingkan dengan sel vegetatif mikroorganisma. Dalam proses fermentasi sterilisasi memegang peran yang sangat penting untuk menjamin keberhasilan proses tersebut.

Sterilisasi diperlukan untuk:

1. Sterilisasi produk pangan dalam kaleng, botol, dan kemasan lain.
2. Sterilisasi media cair dan nutrien untuk industri bioteknologi, misal obat-obatan dan enzim.
3. Sterilisasi bioreaktor dengan alat pengendali dan pemonitor.

Sterilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan proses panas dibedakan atas panas kering (dry heat) dan panas basah (wet heat). Proses sterilisasi dengan menggunakan panas ini sangat tergantung pada waktu dan suhu sterilisasi. Penggunaan panas dalam proses sterilisasi dapat mengakibatkan perubahan terhadap substrat dan nutrien misal terjadi proses karamelisasi larutan gula, denaturasi protein, menonaktifkan vitamin reaksi gula dengan asam amino, polimerasi aldehida tak jenuh.

Penggunaan panas dalam proses sterilisasi dapat mengakibatkan perubahan terhadap substrat dan nutrien misal terjadi proses karamelisasi larutan gula, denaturasi protein, menonaktifkan vitamin reaksi gula dengan asam amino, polimerasi aldehida tak jenuh

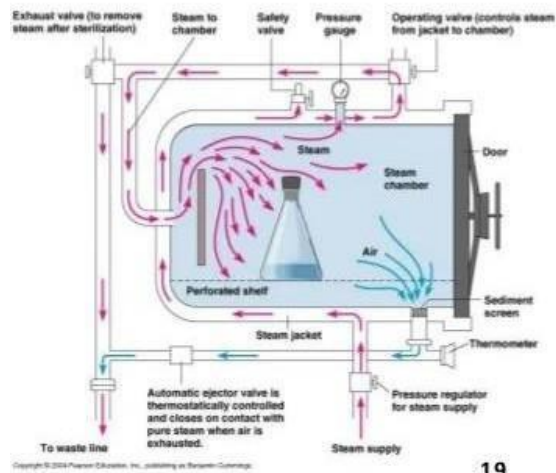
Pada prinsipnya sterilisasi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu:

1. Sterilisasi secara mekanik (filtrasi)
2. Sterilisasi ini menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0,22mikron/0,45mikron). Sehingga mikroba tertahan pada saringan.
3. Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan dan penyinaran.
  - a. Pemanasan
    - Pemijaran (dengan api langsung) membakar alat dengan api secara langsung
    - Panas kering menggunakan oven kira-kira 60-180°C
    - Uap air panas konsep ini mirip dengan mengukus
    - Uap air panas bertekanan menggunakan autoclave
  - b. Penyinaran dengan UV

Sinar ultraviolet juga dapat dilakukan untuk proses sterilisasi misalnya untuk membunuh mikroba yang menempel pada permukaan Interior Safety Cabinet dengan disinari lampu UV.
4. Sterilisasi secara kimia menggunakan senyawa desinfektan seperti alkohol

Beberapa faktor yang mempengaruhi sterilisasi ini termasuk kelembaban, konsentrasi gas, suhu dan distribusi gas dalam chamber pengesterilan. Penghancuran bakteri tergantung pada adanya kelembaban gas dan suhu dalam bahan pengemas, penetrasi melalui bahan pengemas. Pada pengemas pertama atau kedua harus dilakukan persyaratan desain khusus pada bahan pengemas,

## INSTRUMENT USED



Gambar 1 Instrument Yang Digunakan



Gambar 2. Api Bunsen



Gambar 3. Hot Air Oven


### **C. BAHAN DAN ALAT PRAKTIKUM**

1. Autoclave/Pemanas
2. Alumunium foil
3. Kapas berlemak
4. Benang
5. Alat atau media yang akan disterilkan

### **D. PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Mencuci sampai bersih peralatan gelas yang akan disterilkan, lalu dikeringkan di oven.
2. Meminntal kapas dengan tangan (tangan harus bersih), lalu sumbat pintalan kapas tadi ke bagian mulut tabung reaksi, erlenmeyer, atau peralatan gelas lainnya, agar mikroba tidak dapat menembusnya.
3. Menutup kapas pada mulut peralatan gelas tadi dengan alumunium foil dan ikat dengan tali yang disediakan, agar kapas tidak basah pada waktu akan sterilisasi uap.
4. Memasukkannya ke autoclave atau oven sesuai yang dibutuhkan misalnya selama 20 menit pada suhu 100°C.
5. Menghidupkan alat autoclave sesuai Standar Operasional Prosedur penggunaannya.
6. Setelah selesai sterilisasi, mengeluarkan peralatan gelas tadi, lalu dinginkan pada suhu ruangan dan simpan pada tempat yang aman.



<b>TBP</b>	<b>STERILISASI II (UJI STERILISASI)</b>	
------------	---	---

#### **A. TUJUAN PERCOBAAN**

- Mahasiswa dapat melakukan teknik pengujian sterilisasi suatu alat
- Mahasiswa dapat menentukan tingkat keberhasilan steril/tidak suatu alat

#### **B. DASAR TEORI**

Sterilisasi mempunyai peranan penting dalam menjamin keberhasilan suatu proses Fermentasi. Kehadiran mikroorganisme asing yang tidak dikehendaki dalam suatu proses fermentasi dapat mengakibatkan penurunan produktivitas dan degradasi produk fermentasi yang dikembangkan. Salah satu cara yang digunakan untuk menghindari kontaminasi dalam proses sterilisasi peralatan yang dilakukan dapat ditempuh pengujian (uji) sterilisasi alat tersebut.

#### **C. BAHAN DAN ALAT**

- 2 buah tabung reaksi
- 2 buah pipet
- 2 buah cawan petri
- 2 tabung agar kaldu
- 30 ml air steril

#### **D. CARA KERJA**

1. Masukkan 10 ml air steril secara aseptis kedalam botol/tabung reaksi yang akan diperiksa kocoklah dengan hati-hati (jangan sampai mengenai tutup botolnya).
2. Siapkan cawan petri steril, ambil 1 ml air dari botol itu masukkan kedalam cawan petri.
3. Tuangkan media agar yang telah dicairkan dan telah didinginkan sampai suhu 45-50°C kedalam cawan petri yang telah diisi air tadi, dan putar secara pelan-pelan cawan supaya cuplikan airnya bercampur

secara merata dengan media agarnya.

4. Biarkan cawan yang telah diberi agar-agarnya dingin dan membeku.
5. Untuk memeriksa kemungkinan terjadinya kontaminasi pada air dilakukan pula pemeriksaan terhadap airnya, yaitu dengan mengambil 1 ml air steril dan masukkan ke dalam cawan petri kemudian tambahkan agar seperti diatas.
6. Cawan petri yang telah berisi itu dibungkus dan disimpan dalam lemari/incubator pada suhu 30°C, untuk kemudian diperiksa ada tidaknya pertumbuhan

<b>TBP</b>	<b>PEMBUATAN MEDIA</b>	
------------	------------------------	---

### A. TUJUAN PERCOBAAN

- Dapat mengetahui dan membuat beberapa macam media yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya.

### B. DASAR TEORI

#### a. Macam-macam Media

Secara umum dapat dikelompokkan dalam 3 golongan yaitu media alam semi buatan dan media buatan. Media alam contohnya media tape, nasi, tanah, dan lain-lain Media semi buatan yaitu media yang dibuat dari bahan-bahan kimia dicampur dengan bahan alami, seperti media agar tauge, agar kentang destrose dan lain-lain. Sedangkan media buatan adalah media yang seluruhnya dibuat dari bahan kimia contohnya agar sabouraud, agar czapek Dok, dan lain-lain.

Menurut bentuknya, media dapat digolongkan dalam media cair, media semi padat dan media semi padat. Media semi padat adalah media yang mengandung sama dengan media cair, tetapi ditambah dengan agar-agar sehingga hampir padat. Sedangkan medium padat yaitu medium cair yang ditambah agar-agar sehingga jadi padat

Menurut kegunaannya, medium dapat digolongkan atas

1. Medium umum, yaitu medium yang umum dipakai untuk menumbuhkan mikroorganisme, dimana berbagai mikroorganisme dapat tumbuh pada medium ini. Contohnya agar nutrisi bakteri, agar kentang dextrosa untuk jamur
2. Medium selektif, yaitu medium yang hanya dapat ditumbuhi semacam mikroorganisme dengan memberikan ciri tertentu. Mikroorganisme tersebut mampu menguraikan salah satu bagian pembuat medium dimana mikroorganisme lain yang sama-sama tumbuh disitu tidak mampu Contoh agar darah, agar ecsin metilen blue, dan lain-lain
3. Medium pengaya, yaitu medium yang dipakai untuk menumbuhkan mikroorganisme tertentu sebelum ditumbuhkan pada medium yang dipakai dalam penelitian dengan maksud menyuburkan lebih dahulu mikroorganisme tersebut.

b. Penyimpanan media

Sebelum digunakan, medium yang sudah disterilkan, baik medium cair maupun medium padat, dapat disimpan di dalam tabung-tabung gas berupa Erlenmeyer atau tabung reaksi ataupun dalam botol.

**C. ALAT DAN BAHAN**

- Peralatan

- Cawan petri steril (2 buah)
- Autoclave
- Tabung reaksi steril (2 buah)
- Penjepit
- Gelas kimia
- Inkubator
- Kaca arloji
- Neraca analitik

- Bahan

- Agar-agar Kaldu
- Pepton/Bacto
- NaCl
- Aquades

**D. PROSEDUR PERCOBAN PEMBUATAN MEDIA**

**1. Media Nutrient Agar (Agar Kaldu)**

- Bahan

- NaCl 5 gr
- Pepton (bacto) 5 gr
- Ekstrak daging (lemco) 3 gr
- Agar agar bacto 18 gr
- Aquadest 1 L

(Catatan : Setiap komposisi dibagi 10 untuk membuat 100 ml agar kaldu)



- Langkah Kerja
  1. Campurkan bahan di atas.
  2. Panaskan hingga mendidih, didihkan selama 5 menit.
  3. Ambil dari atas api tambahkan 3-5 ml NaOH 20% sambil diaduk dengan menggoyangkan labu erlenmeyer hingga bereaksi basa terhadap indicator brom tymol blue (BTB).
  4. Biarkan kotorannya mengendap.
  5. Saring melalui saringan kapas hingga betung.
  6. Periksa reaksinya terhadap brom thymol blue 0,04% dan netralkan hingga akhirnya diperoleh Ph 6,8 7,0.
  7. Tambahkan airnya sampai 1 liter.
  8. Sterilkan selama 20 menit pada suhu 120°C.

## **2. Media Kaldu 0,5 Glukosa (brom cresol purple)**

- Bahan
  - Larutan kaldu yang belum disterilkan
  - 0,5% glukosa
  - larutan brom cresol purple
- Langkah Kerja
  1. Tambahkan kedalam larutan kaldu 100 ml sebanyak 0.5 gram glukosa
  2. Teteskan larutan brom cresol purple sebanyak 0,1 ml
  3. Sterilkan selama 15 menit pada suhu 120°C

## **3. Media Kaldu 0,5 Laktosa BCP (brom cresol purple)**

- Bahan
  - Larutan kaldu yang belum disterilkan
  - 0,5% laktosa
  - Larutan brom cresol purple
- Langkah Kerja
  1. Tambahkan kedalam larutan kaldu 100 ml sebanyak 0.5 gram glukosa
  2. Teteskan larutan brom cresol purple sebanyak 0,1 ml
  3. Sterilkan selama 15 menit pada suhu 120°C

## **4. Media Kaldu 0,5 Sakarosa BCP (brom cresol purple)**

- Bahan
  - Larutan kaldu yang belum disterilkan
  - 0,5% sakarosa
  - Larutan brom cresol purple
- Langkah Kerja
  1. Tambahkan kedalam larutan kaldu 100 ml sebanyak 0,5 gram glukosa
  2. Teteskan larutan brom cresol purple sebanyak 0,1 ml
  3. Sterilkan selama 15 menit pada suhu 120°C

### 5. Media Agar Gelatin

- Bahan
  - Agar agar kaldu yang sudah dibuat
  - 0.4% gelatin
- Langkah Kerja
  - 0.4% gelatin dilarutkan dalam 1 ml air
  - Panaskan sampai gelatinnya larut, tambahkan larutan gelatin tersebut kedalam 100 ml agar agar kaldu yang sudah dibuat tapi belum disterilkan
  - Campurkan sampai rata
  - Sterilkan selama 15 menit pada suhu 120°C

### 6. Media Agar Pati

- Bahan
  - Pepton 5 gram
  - Ekstrak daging 3 gram
  - Pati 2 gram
  - Agar agar 15 gram
  - Aquades 1 liter
- Langkah Kerja
  1. Buat suspensi 2 gram pati dalam sedikit air
  2. Masukkan pepton dan ekstrak daging dalam 1 liter air, kemudian panaskan hingga mendidih
  3. Campurkan a dan b panaskan lagi hingga larut semua
  4. Tambahkan agar agar Panaskan lagi hingga agar agar larut semua
  5. Netralkan terhadap brom thymol blue pH (6,8-7,0)
  6. Masukkan kedalam tabung masing masing 10 ml
  7. Sterilkan selama 20 menit pada suhu 110°C

<b>TBP</b>	<b>PEMBIAKAN MIKROORGANISME DALAM MEDIA AGAR</b>	
------------	--	---

#### **A. TUJUAN PERCOBAAN**

- Mengenalkan kepada mahasiswa teknik perlakuan aseptik, teknik pembiakkan mikroorganisme dalam media agar miring dan pengenceran dengan menggunakan media agar.

#### **B. DASAR TEORI**

Kultur murni suatu mikroorganisme yang telah diketahui sifat sifat dan kemampuannya dapat disimpan sebagai kultur induk (stock culture/primary culture) kultur tersebut untuk selanjutnya dapat dianggap sebagai kultur persediaan. Salah satu teknik penyimpanannya dan pemeliharaan kultur ini adalah dengan cara membiakan kultur tersebut pada media agar miring dalam tabung reaksi dan selanjutnya disimpan dalam lemari es atau pada suhu kamar. Penyimpanannya dengan cara ini dapat bertahan antara 10 - 14 hari dan selanjutnya proses pembiakkan tersebut harus diulang atau diperbaharui lagi secara periodic.

Proses pembiakkan kultur mikroorganisme perlu dilakukan dengan menetapkan teknik perlakuan secara aseptis. Hal ini dilakukan untuk menghindari terjadinya kontaminasi dalam sistem yang dikembangkan.

#### **C. PERCOBAAN 1: PEMBIAKAN DALAM MEDIA AGAR**

- Alat dan bahan
  - Jarum ose
  - Pembakar spritus
  - Biakan mikroorganisme dalam agar miring sebagai kultur induk
  - Tabung reaksi yang berisi media agar miring steril

### **CARA KERJA**

1. memijarkan jarum penanam atau jarum ose dengan menggunakan pembakaran spritus
2. mengambil biakan dalam kultur induk dengan cara menggoreskan jarum ose pada permukaan agar miring yang telah mengandung mikroorganisme tersebut dalam media agar miring dengan cara membuat garis zig-zag dari permukaan ujung bawah hingga ujung atas.

### **D. PERCOBAAN II: PENGECERAN DENGAN MEDIA AGAR**

- Alat dan bahan
  - Cawan petri steril
  - Tabung kosong steril
  - Tabung terisi media agar 10 ml steril
  - Pipet 1 ml steril
  - Suspensi mikroorganisme
  - Jarum ose
  - Pembakar spritus

### **CARA KERJA**

1. Mencairkan agar dalam tabung pada penangas air kemudian dinginkan hingga temperatur 45.50°C
2. Memasukan 3 tetes suspensi mikroorganisme kedalam tabung agar
3. Mencampurkan sebaik mungkin dengan cara tuang menuang kedalam tabung reaksi kosong
4. Menuangkan agar tersebut kemudian masukkan kedalam cawan petri

<b>TBP</b>	<b>ISOLASI DAN SELEKSI MIKROORGANISME</b>	
------------	---	---

#### **A. TUJUAN PERCOBAAN**

- Mahasiswa dapat mempelajari proses isolasi dan seleksi mikroorganisme

#### **B. DASAR TEORI**

Screening adalah proses untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial untuk aplikasi industri. Screening meliputi tahapan isolasi dan seleksi. Isolasi adalah kegiatan pemisahan suatu kultur mikroorganisme dari campuran biakan beberapa jenis mikroorganisme yang terdapat di alam. Seleksi dilakukan dengan memanipulasi kondisi lingkungan (pH, temperatur, aerob, anaerob dsb) dan komposisi media tumbuh sehingga diperoleh suatu jenis mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan reaksi atau produk yang kita inginkan.

Seleksi suatu kultur harus menggabungkan antara produktivitas mikroorganisme dan faktor ekonomi lainnya. Pemilihan mikroorganisme untuk proses produksi memenuhi kriteria sebagai berikut.

1. Kemampuan untuk beradaptasi dengan media fermentasi yang murah
2. Temperatur optimum pertumbuhan mikroorganisme di atas 40°C
3. Kemampuan untuk mengkonversi substrat (produktivitas) tinggi
4. Memiliki kestabilan genetik
5. Kemampuan beradaptasi dengan reaktor dan tipe proses yang digunakan
6. Kemudahan memisahkan produk (recovery) dari kultur

#### **C. TAHAP 1 (ISOLASI) ALAT DAN BAHAN**

- Tanah/sampel lain
- Air steril dalam erlenmeyer
- Air steril (9 ml) dalam tabung reaksi
- Cawan petri steril
- Pipet steril



- Agar-agar:
  - a) Agar-agar kaldu/nutrisi untuk isolasi secara umum
  - b) Agar-agar selektif untuk isolasi jenis mikroorganisme tertentu

#### **PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Sampel tanah dikeringkan di udara sampai kadar airnya kira-kira 10% dan terbentuknya butir-butir
2. Suspensikan sejumlah tanah (10 gram) dalam 100 ml steril dan dikocok. Lakukan pengenceran dari 10' sampai 10
3. Masukkan 1 ml dari tiap-tiap suspensi tanah masing-masing kedalam cawan petri steril
4. Dinginkan agar-agar yang telah dicairkan sampai suhu 45-50°C. Dan menuangkan ke dalam cawan petri yang telah diisi suspensi tanah
5. Campurkan agar-agar dan suspensi tanah dengan cara memutar dan menggoyangkan cawan petri
6. Simpan pada suhu 24-25°C selama beberapa hari sehingga tumbuh koloni dari berbagai mikroorganisme. Suhu inkubasi dapat diperluas misalnya sampai 37°C atau 45°C, jika menginginkan jenis mikroorganisme (mo) yang termofilik

#### **D. TAHAP 2 (ISOLASI 2) ALAT DAN BAHAN**

- Air steril 1 ml dalam tabung tabung reaksi
- Agar-agar kaldu/putr
- Cawan petri steril
- Jarum ose atau dip Drigalska
- Tabung steril
- Pipet steril

#### **PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Memeriksa pertumbuhan mikroorganisme dalam cawan petri (hasil periode pertama)
2. Memilih koloni-koloni mikroorganisme yang dikehendaki (terutama yang menunjukkan adanya daerah hambatan di sekitarnya). Mengambil koloni

tersebut dengan jarum ose dan menyuspensikan 1 ml air steril

3. Mendinginkan agar-agar yang telah dicairkan sampai suhu 45-50°C, menuangkan ke dalam cawan petri steril sehingga membeku dan dingin
4. Peniuruan mikroorganisme yang telah dipilih dapat dilakukan dengan metoda metoda berikut :
  - Mengesekkan masing-masing suspensi mikroorganisme pada permukaan agar-agar dalam cawan petri dengan menggunakan jarum lengkung/ose. Caranya adalah sebagai berikut. Menyinggungkan bagian lengkung dan jarum lengkung yang telah dibakar pada permukaan suspensi mikroorganisme dalam tabung reaksi
  - Mengesekkan bagian lengkung jarum lengkung pada permukaan agar-agar dalam cawan petri mulai dari bagian pinggir sampai ke tengah. Memutar cawan petri tersebut dan jarum digesekkan kembali pada permukaan agar-agar yang belum kena gesekkan (tanpa mencelupkan kembali ke dalam suspensi mo)
  - Membalikkan cawan petri yang telah digesekkan dan dibungkus
- b) Pengesekkan penggeseran dengan sudip Drigalski (batang gelas yang ujungnya dilengkungkan 90°C)
  - Meneteskan beberapa tetes suspensi mo dengan jarum ose atau pipet pasteur di tengah-tengah agar-agar dalam cawan petri
  - Memanaskan sudip Drigalski (bagian lengkungnya dan sebagian tangkinya) dengan api bunsen dan dinginkan sebentar. Kemudian menggesek dan menggeser suspensi mo di atas
  - agar-agar hingga pada seluruh permukaannya
  - Membalikkan cawan petri dan dibungkus
- c) Cara pengenceran dengan agar-agar
  - Mengambil 2-3 tetes dari tiap enceran suspensi mo dengan pipet pasteur steril dan memasukkan ke dalam agar-agar cair bersuhu 45-50°C
  - Mencampurkan suspensi mo dengan agar-agar tadi dengan cara tuang menuang ke dalam tabung steril kosong 3-4 kali agar tercampur merata

(melakukan dengan cepat dan cermat)

- Menuangkan agar-agar ke dalam cawan petri steril dan biarkan sampai membeku dan dingin
- Membalikkan cawan petri dan bungkus
- Menginkubasi semua cawan petri pada suhu 28-30°C selama beberapa hari sampai terlibat pertumbuhan koloni

#### **E. TAHAP 3 (ISOLASI 3) ALAT DAN BAHAN**

- Agar agar dalam tabung reaksi
- Cawan petri
- Air steril dalam tabung reaksi
- Jarum lengkung/jarum ose

#### **PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Periksa pertumbuhan koloni pada cawan petri Biasanya hasil pertumbuhan ini belum murni karena baru sekali dilakukan sehingga pemurnian harus diulangi lagi
2. Buat suspensi dari koloni dan yang terpisah
3. Tuangkan agar agar yang telah dicairkan dan didinginkan kedalam cawan petri, biarkan dingin dan membeku
4. Gesekkan suspensi tadi (2) pada pemurnian agar agar seperti pada periode II butir 4
5. Balikkan cawan petri, bungkus dan inkubasi

#### **F. TAHAP 4 (ISOLASI 4) ALAT DAN BAHAN**

- Media Agar miring dalam tabung reaksi
- Cawan petri steril
- Kaca objek
- Zat zat warna untuk pewarna gram
- Air steril dalam tabung reaksi
- Jarum ose

**G. PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Periksa pertumbuhan koloni-koloni pada cawan petri. Bila sudah murut, yakinkan dengan pemeriksaan mikroskop.
2. Bagi koloni bakteri buatlah preparat berwarna menurut gram dan priksalah dengan mikroskop. Apabila yang terlihat hanya satu jenis warna dan sel selnya hanya satu bentuk mak itu sudah murni.
3. Selanjutnya gesekan suspensi (dibuat dari sisa koloni yang diambil untuk pewarnaan) pada agar agar miring sebagai biakan murni, kemudian diuji kemampuannya.
4. Kemurnian untuk golongan jamur umumnya sudah dapat dilihat dari koloni koloninya tetapi juga melakukan pemeriksaan mikroskopis dengan dibuat preparat khusus untuk jamur pada kaca objek.
5. Bila setelah diperiksa dibawah mikroskop atau tampak koloni-koloninya belum murni maka proses pemurnian harus diulangi kembali (seperti pada periode III).

<b>TBP</b>	<b>ISOLASI DAN SELEKSI MIKROORGANISME</b>	
------------	---	---

### A. DASAR TEORI

Mikroskop dipergunakan untuk memperoleh bayangan yang sangat halus dari suatu benda dan dengan demikian dapat dilihat susunan yang halus dari suatu benda yang bagian-hagiannya tidak terlihat dengan mata biasa.

Bagian-bagian dari mikroskop :

1. Statief

Pada statief terpasang bagian kaki, tiang, dan meja benda

2. Kyker (Optika)

Merupakan bagian yang terpenting dari mikroskop dimana terdapat alat- alat perbesaran benda terdiri dari :

Okuler : terdapat perbesaran 5x, 6x, 12x, dst

Objektif : dapat digerakkan dan menunjukkan kekuatan perbesaran seperti pada okuler 10x, 50x, 100x, 200x, dst

Pembesaran dengan mikroskop dapat ditemukan dengan mengalihkan kekuatan pembesaran objektif dan okuler yang dipakai Misalnya objektif 20x, okuler 5x, maka perbesaran yang dipertoleh adalah 100x perhitungan semacam ini sebenarnya tidak tepat, sebab pembesaran dari mikroskop masih dipengaruhi oleh panjang tubuh kyker, ialah jarak antara okuler sampai pada bagian tengali revolver yang dapat berputar (bagian atas objektif)

Panjang tubuh kyker hiasanya ditentukan menurut macam mikroskopnya. Biasanya untuk mikroskop keluaran pabrik Leitz 170mm, untuk Zeiss 160 mm, pda okuler buis biasanya terdapat satu garis tanda yang menunjukkan panjang tubuli kyker yang tepat.

Alat Cermin

1. Cermin datar dan cekung berfungsi untuk menangkap cahaya, diteruskan melalui benda ke mata kita. Cermin ini dapat berputar kesegalah arah. Bagian cermin ckung yang dapat ditangkap lebih

banyak daripada cernun datar

2. Diafragram untuk mengatur banyak dikitnya cahaya yang dibutuhkan
3. Kondensor, sebuah lenaa untuk memusatkan cahaya yang dipegunakan dan cara ini pun dapat mengatur masuknya Cahaya.

Dalam pengamatan deaga mikroskop dikenal dengan 2 sistem yaitu :

1. Sistem kering

Dengan tidak menggunakan caran preparat dan lensa (objektif)

2. Sistem basah

Dengan mempergunakan cairan antara objektif dengan preparat cairan dapat dipakai air, tetapi yang lazim dipakai adalah minyak cedar (cedar oil). Dengan immersie system yang dapat dipertoleh pembesaran yang jauh lebin besar dari sistem kering sampai 1000x atau lebih. Sehabis bekerja dengan immersie oil, lensa harus dibasahi dengan a lkohol absolut atau dengan xylol, juga pada pekerjaan biasa lainnya jika lensa menjadi kotor karena sesuatu hal yang harus dibersihkan.

## **I. MIKROSKOP - 1 TUJUAN PERCOBAAN**

- Mengenalkan kepada mahasiswa cara pemakaian mikroskop untuk mengamati dan melihat berbagai bentuk serat.

## **ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN**

- Mikroskop
- Preparat
- Kaca objek
- Kaca penutup
- Bunsen
- Pinset
- Jarum ose
- Serat kapas, kapuk dan bulu ayam/bebek



### **PROSEDUR PERCOBAAN**

3. Siapkan macam-macam bahan serta seperti kapas, serat kapuk dan serat bulu
4. Bersihkan kaca objek dan kaca penutup menggunakan alkohol lalu keringkan
5. Ambil masing-masing serat, diletakkan pada kaca objek lalu ditutup dengan kaca penutup
6. Gambarkan apa yang dilihat dalam mikroskop dengan cara mata kiri melihat ke dalam mikroskop, mata kanan dan tangan kanan menggambar
7. Gambarkan apa yang diamati dan menerangkan perbedaan masing-masing serat diatas

### **II. MIKROSKOP-2 TUJUAN PERCOBAAN**

- Mengenalkan kepada mahasiswa cara pemakain mikroskop untuk mengamati dan melihat berbagai amilum

### **BAHAN YANG DIGUNAKAN**

- Mikroskop
- Preparat
- Kaca objek
- Kaca penutup
- Jarum preparat
- Mortar
- Gliserm
- 4 macam bentuk amilum (kentang, jagung, ketela/ubi kayu dan butir beras)

### **PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Siapkan 3 macam bentuk amilum yaitu butir amilum kentang, ketela, jagung, dan beras
2. Haluskan dengan menggunakan mortar beberapa butir amilum dengan jarum preparat
3. Diperiksa dalam au atau dalam glicerin

4. Teteskan larutan I, dalam KI atau Iodium tinctur pada preparat
5. Dibagian sisi kaca tutup dan pada sisi yang lain, cairan yang ada dibawah kaca penutup dihisap keluar dengan kertas penghisap, sehingga 1, dalam KI akan masuk ke dalam dengan perlahan ke bawah kaca penutup
6. Gambarkan hasil pengamatan dan menerangkan perbedaan beberapa sampel di atas Perhatikan adanya lamella, dan letak hilus terhadap lamella (konsentrasi atau eksentris)

### **III. MIKROSKOP-3 TUJUAN PERCOBAAN**

- Mengenalkan kepada mahasiswa pemakaian mikroskop untuk melihat macam-macam mikroorganisme dalam air

### **BAHAN YANG DIGUNAKAN**

- Larutan alkohol
- Sampel air yang mengandung mikroorganisme pada air sungai, selokan, sumur
- 3 Aquadest

### **ALAT YANG DIGUNAKAN**

- Mikroskop
- Jarum Ose
- Kaca Penutup
- Preparat
- Kaca Objek

### **PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Siapkan 3 jenis air, yaitu
  - Air permukaan (surface water) misalnya air sungai
  - Air limbah (waste water) misalnya air selokan
  - Air dalam tanah (ground water) misalnya air sumber mata air, atau air sumur
2. Bersihkan kaca preparat, dibilas pakai alkohol lalu keringkan
3. Ambil air masing-masing jenis dengan pipet, taruh diatas gelas preparat, lalu

ditutup dengan kaca penutup

4. Amati dengan mempergunakan pembesaran tertentu. Memperhatikan dalam pengamatan ini kemungkinan saudara akan menemukan mikroorganisme yang bergerak
5. Gambarkan apa yang anda lihat dan untuk mempermudah perkiraan gambar mikroba anda harus menggunakan literatur

#### **IV. MIKROSKOP-4 TUJUAN PERCOBAAN**

- Mengenalkan kepada mahasiswa pemakaian mikroskop untuk melihat macam-macam mikroorganisme dari susu

#### **BAHAN YANG DIGUNAKAN**

- Larutan methylen blue
- Larutan susu bagus dan larutan susu basi/rusak

#### **ALAT YANG DIGUNAKAN**

- Mikroskop
- Preparat
- Kaca Objek
- Kaca Pemitup
- 

#### **PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Menyediakan preparat susu segar dan susu yang telah rusak
2. Menyelidiki mikroorganisme dalam bahan tersebut dan mengamati perbedaan pada kedua bahan tersebut
3. Menyelidiki banyaknya mikroorganisme dalam bahan tersebut dengan methylene blue, reduction metode: Mengambil 10 cc milk sampel, ditaruh dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 10 cc larutan standar dari methylene blue thyocianate, ditutup dengan kapas

<b>TBP</b>	<b>PENETAPAN JUMLAH SEL HIDUP DAN SEL MATI DALAM RAGI KERING (DRIED YEAST)/(PJS-1)</b>	
------------	--	---

### A. TUJUAN PERCOBAAN

- Mahasiswa dapat menggunakan mikroskop
- Mahasiswa dapat membedakan sel ragi yang hidup dan sel ragi yang mati
- Mahasiswa dapat menghitung persentase sel ragi yang hidup dalam suatu suspensi mikroorganisme

### B. DASAR TEORI

Mikroba tersebar secara luas di alam, dalam kehidupannya mereka tidak membatasi diri tinggal disuatu tempat. Sepanjang tempat tersebut memenuhi persyaratan maka mikroba tersebut akan hidup. Namun demikian ada juga mikroba tersebut akan mati karena tidak dapat menyesuaikan dengan lingkungan atau adanya bakteri pathogen.

Zat udara dapat meracuni mikroba, karena itu akan ditolak oleh mikroba itu sendiri, tetapi pada mikroba yang mati zat warna akan masuk kedalam dinding sel bersifat tidak permeabel lagi sehingga menjadi tidak selektif. Pemberian zat warna dapat membedakan sel hidup dan mati, melalui percobaan sebagai berikut.

### C. BAHAN DAN ALAT

- Kaca objek                      1 buah
- Kaca tutup                      1 buah
- Bibit ragi kering              1 gr
- Mortar                            1 buah
- Tabung reaksi                5 buah
- Larutan “Methylen Blue” dalam air (0,1%) secukupnya
- Mikroskop                      1 buah
- Preparat                        3 buah

#### **D. PROSEDUR PERCOBAAN**

1. Hancurkan 1 gram bibit ragi kering dalam lumpang sampai halus, menambahkan air dan membuat dalam suatu tabung kimia suatu suspensi bibit ragi Konsentrasi harus sedemikian, hingga dalam preparat yang diperiksa dengan mikroskop pada tiap tiap bidang pandangan terlibat antara 50 sampai 100 sel.
2. Tempatkan satu tetes dari suspensi tersebut diatas kaca objek dan mencampurkan dengan larutan Methylen Blue hingga cairan diatas kaca objek berwarna biru muda
3. Tutup dengan kaca tutup, memeriksa preparat menggunakan mikroskop Sel yang mati berwarna biru, sedangkan sel hidup tidak menyerap warna
4. Catat jumlah sel yang berwarna dan tidak, menentukan persentase sel hidup dengan memeriksa 5 bidang pandangan

#### **E. CARA MENGGUNAKAN MIKROSKOP**

1. Menempatkan mikroskop pada meja kerja, mengatur tinggi bangku duduk sehingga penglihatan pada okuler mudah
2. Memutar sekrup penentapan kasar, hingga tubus mikroskop naik kira kira 2 cm dan menempatkan preparat ditengah, kemudian cengkeram dengan jepitan
3. Menaikkan kondensor dan buka diafragma seluruhnya dan menempatkan sumber cahaya kira kira 15 cm didepan mikroskop dan menyalakan lampu serta mengarahkan berkas cahaya di depan cermin mikroskop
4. Melihat preparat dari samping (jangan melalui OKULER!) dan menetapkan cermin datar sedemikian sehingga preparat disinari dengan terang
5. Sambil melihat preparat dari samping, memutar objektif 10x ke bawah hingga kira kira sampai 1/2 cm diatas preparat
6. Melihat sekarang melalui okuler dan menetapkan cermin dengan tepat. Arahnya harus sedemikian sehingga bidang pandangan disinart seterang terangnya
7. Menutup diafragma dari kondensor sedemikian, hingga bidang bayangan diterangi sama rata
8. Melihat melalui okuler dan memutar tubusnya perlahan lahan keatas dengan

sekrup penetapan kasar, hingga bayangan terang dari preparat, jika perlu menetapkan dengan sekrup penetapan halus.

9. Setelah selesai memakai mikroskop, maka sebelum disimpan di dalam lemari perlu melakukan:
  - 1) Kondensor diputar kebawah
  - 2) Revolver diputar sedemikian, hingga lensa yang terkecil berada di bawah dan kemudian tubus diputar ke bawah. Mikroskop dibersihkan dulu dengan lap bersih

<b>TBP</b>	<b>PENETAPAN JUMLAH SEL DENGAN MENGUNAKAN RUANG HITUNG (COUNTING CHAMBER)/(PJS-2)</b>	
------------	---	---

### **A. TUJUAN PERCOBAAN**

- Mahasiswa dapat mempelajari cara menentukan konsentrasi sel melalui metoda penetapan jumlah sel dengan Counting Chamber

### **B. DASAR TEORI**

Suatu ruang hitung (Counting Chamber) merupakan suatu kaca objek tebal, diatasnya diasahkan suatu dataran yang dalamnya 0,1 mm. Pada dataran ini dibuat garis garis berbentuk 16 persegi besat di bagi lagi menjadi 16 persegi kecil, Panjang sisi persegi kecil 0,05 mm. Jika diatas bagian yang diasah diletakkan sebuah kaca tutup maka terbentuk suatu ruangan yang tingginya adalah 0,1 mm

Tiap tiap persegi kecil dibawah kaca tutup tersebut merupakan suatu ruangan dengan ist  $0,05 \times 0,05 \times 0,1 \text{ mm}^3$   $25 \times 10^{-5} \text{ mm}^3$ . Jika dibawah kaca tutup tersebut dimasukkan setetes suspense ragi, maka dengan mikroskop dapat dihitung jumlah sel dalam tiap tiap persegi tersebut. Sehingga dapat dilutung pula jumlah sel per ml dari suspense tersebut.

Counting Chamber memiliki dua saluran yang dalam pada kedua isi ruang hinumguya yang berfungsi untuk menampung kelebihan cairan. Kaca tutup yang diletakkan diatas ruang hitung harus kering agar ketinggian dari ruang hitung tetap terjaga Pada Counting Chamber model baru, di atas suatu kaca objek dibuat 2 ruang hitung yang satu sama lain dipisahkan dengan saluran

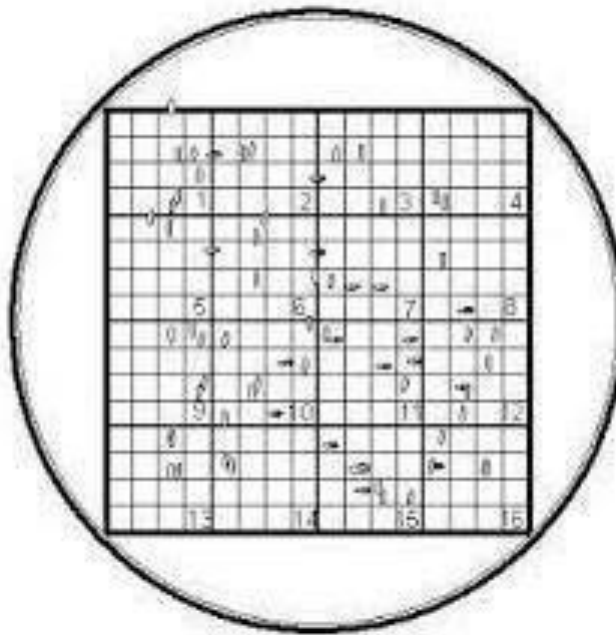
### **C. ALAT DAN BAHAN PRAKTIKUM**

- Counting Chamber
- Counter
- Suspensi ragi
- Tabung reaksi
- Labu takar
- Pipet ukur
- Perangkat Mikroskop

#### D. CARA KERJA

1. Mengencerkan suspensi ragi dengan air sehingga jumlah sel di dalam tiap persegi kecil berkisar 10 buah. Pengenceran harus dilakukan sangat teliti dengan menggunakan labu takar dan pipet ukur
2. Menutup ruang hitung dengan kaca tutup, dan meneteskan dengan pipet kecil setetes suspensi ragi pada pinggir kaca tutup. Tetesan akan mengalir ke bawah kaca tutup dan mengisi ruang hitung
3. Menghitung jumlah sel dalam lima persegi besar (80% persegi kecil) dengan menghitung sel-sel yang berada dalam persegi kecil Pekerjaan tersebut (mengencerkan, mengisi ruang hitung dan menghitung jumlah sel) dilakukan tiga kali.
4. Jumlah sel dalam tiap ml (konsentrasi sel=  $1 / (80 \times 25 \times 10^{-5} \times 10^{-5}) \times$  jumlah sel yang terhitung di atas
5. Kemudian menghitung jumlah rata-rata dari tiga penetapan yang dilakukan

#### CARA MENGHITUNG MIKROORGANISME DENGAN RUANG HITUNG



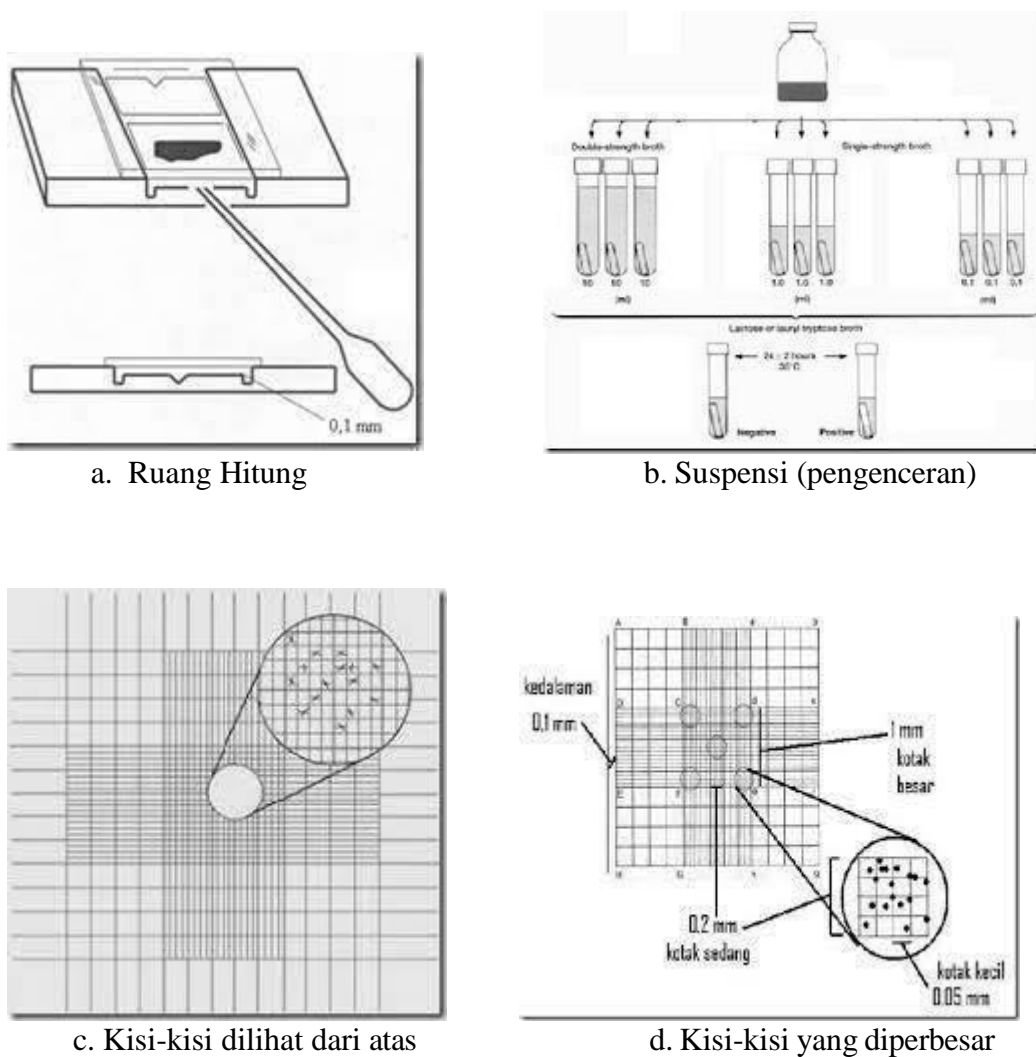
Gambar 4. Cara Menghitung Mikroorganisme dengan Ruang Hitung



Karena letak mikroorganisme hidup tidak teratur, maka dalam menghitung dibuat kesepakatan agar sel yang terletak pada garis tidak dihitung dua kali, yaitu:

- Sel-sel yang terletak pada garis sebelah kanan dan bawah tidak termasuk dalam persegi kecil yang sedang dihitung selnya. Contoh pada persegi nomor 1 jumlah selnya adalah 6.
- Sel-sel yang terletak pada garis sebelah kiri dan atas termasuk dalam persegi kecil yang sedang dihitung selnya. Contoh pada persegi nomor 2 jumlah selnya adalah 3, pada persegi nomor 6 jumlah selnya adalah 5.

### PERHITUNGAN JUMLAH BAKTERI



Gambar 5 . Perhitungan Jumlah Bakteri

<b>TBP</b>	<b>FERMENTASI TEMPE KEDELAI BERWARNA DARI BUTTERFLY BLUE PEA FLOWER/BUNGA TELANG (<i>Clitoria ternatea</i>), KAYU SECANG (<i>Sappan Wood</i>), DAUN SUJI (<i>Suji Leaves</i>)</b>	
------------	---	---

## 1. TUJUAN PERCOBAAN

- Mahasiswa dapat membuat tempe dari kacang kedelai dengan menggunakan berbagai ekstrak pewarna alami.
- Mahasiswa memahami mekanisme fermentasi pada proses pembuatan tempe.

## 2. PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia tentu sudah mengenal tempe sebagai makanan sehari-hari dan mudah dijumpai di berbagai daerah. Tempe termasuk makanan sederhana yang digemari banyak orang dengan harganya terjangkau, rasanya enak, dan bisa diolah jadi berbagai jenis makanan. Bahkan, tempe juga jadi makanan andalan para vegetarian sebagai substitusi protein hewani. Tak hanya lezat dan mudah didapat, tempe juga disebut-sebut sebagai kelompok *superfood* karena kaya nutrisi, seperti protein tinggi dan mengandung berbagai vitamin dan mineral. Tempe merupakan hasil fermentasi kedelai yang umumnya saat dijual umumnya berbentuk bongkahan persegi atau lembaran dan dibungkus satu per satu dengan daun pisang. Penampilan tempe identik dengan warna putih di bagian luar dan bagian dalamnya berwarna kuning kecokelatan khas warna kedelai. Begitulah tampilan tempe yang kita ketahui bertahun-tahun. Di pasar hingga supermarket, bentuk tempe saat dijual kurang lebih serupa.

Saat ini sudah ada tempe yang penampilannya sungguh menarik berbentuk persegi panjang, pipih, kubus dalam kemasan plastik transparan, ada juga yang dibungkus dengan daun-daunan.

### 2.1 Ekstrak Pewarna Alami untuk Tempe

#### 2.1.1 Butterfly Blue Pea Flower / *Clitoria ternatea* (Bunga Telang)

*Clitoria ternatea* ialah bunga yang dapat tumbuh sebagai tanaman hias maupun tanaman liar berkelopak tunggal mempunyai warna ungu. Selain itu, sejak zaman dulu *Clitoria ternatea* di dunia tradisional dikenal sebagai alternatif obat

terapi mata serta perwarna alami makanan. Belakangan ini *Clitoria ternatea* juga sedang ramai dikonsumsi di seluruh dunia akibat dari tren the bunga yang populer melalui social media di Inggris dengan sebutan Butterfly Pea Tea, Andriani dan Murtisiwi, (2018), gambar bunga telang ditunjukkan pada gambar.



Gambar 6. Bunga Telang

#### **Kandungan Fitokimia *Clitoria ternatea*.**

Kandungan Senyawa Fitokimia Tanaman *Clitoria ternatea*.

Senyawa	Mmol/mg bunga
Antosianin	5,40 ± 0,23
Flavonoid	20,07 ± 0,55
Flavonol glikosida	14,66 ± 0,33
Kaempferol glikosida	12,71 ± 0,46
Mirisetin glikosida	0,04 ± 0,01
Quersetin glikosida	1,92 ± 0,12

sumber : Anthika *et al.*, 2015

Tanaman *Clitoria ternatea* diketahui mengandung berbagai macam senyawa fitokimia. Fitokimia adalah senyawa kimia alami pada tanaman yang memiliki efek yang baik secara fisiologis terhadap manusia. Beberapa kandungan fitokimia pada tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) dimuat dalam Tabel 2.1.

*Clitoria ternatea* mempunyai warna selain ungu yaitu biru ada juga merah dikarenakan terkandung *anthocyanin* di dalamnya. Kandungan fitokimia *anthocyanin* tersebut mempunyai kadar konstan/kestabilan yang bagus sehingga mampu digunakan untuk pewarna nonsintetik di dunia industri pangan. Senyawa flavonol/flavonoid pada *Clitoria ternatea* (bunga telang) mampu digunakan untuk sumber vitamin C/antioksidan (Makasana *et al.*, 2017).

### **Manfaat *Clitoria ternatea***

#### **a. Antioksidan**

*Clitoria ternatea* mengandung antioksidan. Aktivitas antioksidan dalam mengelola stres oksidatif pada sistem biologis berlangsung melalui berbagai mekanisme seperti penangkapan radikal bebas, penghambatan enzim oksidatif, sebagai pengkelat ion logam, dan sebagai kofaktor enzim antioksidan (Marpaung, 2020). Dapat dibuktikan dengan warna kelopak bunganya yang terdapat antosianin. Zat tersebut bersifat sebagai antioksidan selain itu juga sebagai pigmen yang berasal dari flavonoid. Berbagai ekstrak solven daun *Clitoria ternatea* digunakan untuk menguji potensi antioksidannya dengan 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH).

Semua ekstrak tersebut menunjukkan potensi aktivitas radikal bebas seiring peningkatan konsentrasi ekstrak – yang paling ampuh adalah ekstrak methanol, lalu kloroform kemudian terakhir adalah ekstrak petroleum ether (Wulan *et al.*, 2019).

#### **b. Antimikroba**

Ekstrak bunga telang mampu menekan pertumbuhan kuman *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Aeromonas formicans*, *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan pemeriksaan yang sudah dilakukan, ekstrak dari daun serta akarnya dinilai paling/sangat efektif membunuh berbagai jenis mikroorganisme, dan daun bunga telang ini menunjukkan hasil aktivitas anti-fungi sangat efektif untuk *Aspergillus niger* (Suganda dan Adhi, 2017).

### **2.1.2 Sappan Wood (Kayu Secang)**

Kayu secang biasa tumbuh di daerah tropis umumnya di tempat terbuka sampai ketinggian 1000 m di atas permukaan laut seperti di pegunungan namun tidak bersuhu terlalu dingin (Astina, 2010). Kayu secang termasuk suku

Caesalpiniaceae. Batang kayu secang berbentuk bulat, berwarna hijau kecokelatan memberikan warna merah bila serutan kayunya direbus (Padmaningrum et al., 2012). Secang merupakan pohon kecil dengan tinggi 5 – 10 m. Permukaan batang kasar dengan duri tersebar. Daun majemuk menyirip, setiap sirip memiliki 10 – 20 pasang anak daun berhadapan, mempunyai daun penumpu.



Gambar 7. Sappan Wood (Serutan Kayu Secang)

Kayu secang seperti pada gambar 2.3. sering digunakan sebagai pengobatan tradisioal karena mengandung asam galat, tanin, resorsin, brasilin, brasilein, d-alfa-phellandrene, antibakteri, oscimene, alkaloid, flavonoid, saponin, fenil propana, terpenoid, dan minyak atsiri (Hidayat et al., 2015). Selain itu, tanaman secang digunakan sebagai salah satu pigmen alami karena menghasilkan pigmen berwarna merah. Pigmen merah ini disebut antosianin yang bersifat mudah larut dalam air panas (Karlina et al., 2012). Pemanfaatan kayu secang ini dengan cara direbus yang bertujuan untuk melarutkan senyawa tanin dan brasilin yang terkandung didalamnya.

Senyawa tanin dan brasilin merupakan senyawa kompleks dengan ukuran dan bentuk molekul yang memungkinkan kelarutannya dalam air (Kumala & Tulus, 2009). Kandungan kayu secang yang bermanfaat sebagai antibakteri diantaranya:

1. Tanin

Tanin dapat bersifat sebagai antibakteri dan astringen (Kumala & Tulus, 2009). Toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba, dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam menambah daya toksisitas tanin (Juliantina et al., 2008).

2. Brasilin

Brasilin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dan bakteriostatik (Kumala & Tulus, 2009). Senyawa brasilin juga merupakan spesifik dari kayu secang yang dapat memberikan warna merah kecoklatan jika teroksidasi atau dalam suasana

basa (Rina et al., 2012) Ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) hasil penapisan mengandung lima senyawa aktif yang terkait dengan flavonoid baik sebagai antioksidan primer maupun antioksidan sekunder (Safitri, 2002). Telah diketahui ternyata flavonoid yang terdapat dalam ekstrak kayu secang memiliki sejumlah kemampuan yaitu dapat meredam atau menghambat pembentukan radikal bebas hidroksil, anion superoksida, radikal peroksil, radikal alkoksil, singlet oksigen, hidrogen peroksida (Miller, 2002). Menurut Haryana (2006) kandungan kimia kayu secang adalah salah satunya adalah Brazilin. Brazilin adalah golongan senyawa yang memberi warna merah pada secang dengan struktur  $C_6H_{14}O_5$  dalam bentuk kristal. Brazilin diduga mempunyai efek anti-inflamasi dan anti bakteri (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*). Menurut Indriani (2003) Brazilin ( $C_6H_{14}O_5$ ) adalah kristal berwarna kuning yang merupakan pigmen warna pada secang. Asam tidak berpengaruh terhadap larutan brazilin, tetapi alkali dapat membuatnya bertambah merah. Eter dan alkohol menimbulkan warna kuning pucat terhadap larutan brazilin. Brazilin akan cepat membentuk warna merah ini disebabkan oleh terbentuknya brazilein. Brazilin jika teroksidasi akan menghasilkan senyawa brazilein yang berwarna merah kecoklatan dan dapat larut dalam air.

### 3. Flavonoid

Flavonoid yang terkandung dalam kayu secang berperan sebagai antikanker, antivirus, antiinflamasi, diuretik dan antihipertensi. Saponin juga terkandung di dalam kayu secang yang berfungsi sebagai antivirus, antibakteri, dan meningkatkan kekebalan tubuh (Yusriana et al., 2014).

Flavonoid berfungsi sebagai anti bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang menghambat integritas membran sitoplasma sel bakteri (Juliantina et al., 2008).

### 4. Alkaloid

Alkaloid memiliki kemampuan antibakteri dengan cara menghambat pembentukan komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh (Juliantina et al., 2008). Sintesis peptidoglikan akan terganggu sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel.

Susunan dinding sel bakteri adalah lapisan peptidoglikan (Retnowati et al., 2011) Peptidoglikan tersusun dari N-asetil glukosamin dan N-asetil asam muramat, yang terikat melalui ikatan 1,4-glikosida. Pada N-asetil asam muramat terdapat rantai pendek asam amino: alanin, glutamat, diaminopimetal,

### 2.1.3 Suji Leaves (Daun Suji)



Gambar 8. Suji Leaves (daun Suji)

Daun berwarna hijau dari daun suji mengandung klorofil. Daun suji segar memiliki kadar air basah sebesar 73,25 % mengandung 3773,9 ppm klorofil yang terdiri atas 2524,6 ppm klorofil a dan 1250,3 ppm klorofil b (Aryanti, 2016).

Daun suji mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid sehingga berkhasiat sebagai anti inflamasi atau anti radang (Khino, 2011). Flavonoid berfungsi untuk : 1) melancarkan peredaran darah ke seluruh tubuh, 2) mengurangi kandungan kolesterol, 3) sebagai antioksidan, dan 4) mengurangi kadar resiko penyakit jantung (Ratnani, 2009).

Pewarna pangan alami merupakan salah satu kontribusi untuk mewujudkan keamanan pangan di Indonesia sebagaimana telah dinyatakan dalam Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan. Klorofil adalah pigmen hijau yang dapat diperoleh dengan proses ekstraksi. Salah satu zat pewarna alami yang paling sering digunakan adalah klorofil dari daun suji. Dalam penelitian ini, klorofil dari daun suji diekstraksi menggunakan ekstraksi maserasi dengan penambahan zat penstabil  $\text{NaHCO}_3$ . Ekstraksi klorofil umumnya menggunakan solvent berbasis alkohol, namun dalam penelitian ini digunakan solvent aquadest. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi ekstraksi, karakterisasi ekstrak, mikroenkapsulasi dan karakterisasi bubuk klorofil. Ekstrak klorofil dianalisa konsentrasi klorofilnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Karakterisasi bubuk klorofil meliputi kadar air, analisa nilai kelarutan pewarna klorofil, analisa

intensitas warna dan uji gugus fungsional spesifik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi klorofil dengan penambahan zat penstabil  $\text{NaHCO}_3$  sebesar 3% merupakan konsentrasi penambahan terbaik dan menghasilkan konsentrasi klorofil sebesar 41,939 mg/L. Sedangkan tanpa penambahan  $\text{NaHCO}_3$  menghasilkan ekstrak klorofil cair dengan konsentrasi klorofil sebesar 30,327 mg/L, bubuk klorofil daun suji yang dihasilkan mempunyai kelarutan 96,15%, kadar air 11,29% dan nilai intensitas warna  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$  sebesar 72,454, -12,222 dan 26,494. Analisa gugus fungsional dari bubuk klorofil menggambarkan adanya puncak-puncak spesifik dari karakteristik struktur klorofil.

## 2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, salah satunya yaitu metode maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (Susanty & Fairus, 2016). Setelah proses ekstraksi dilakukan, senyawa dipisahkan pelarutnya. Pemisahan ini dilakukan agar memperoleh ekstrak dengan senyawa kita inginkan. Pemisahan ini menggunakan rotary evaporator. Rotary evaporator merupakan suatu alat yang berfungsi untuk memisahkan suatu larutan dari pelarutnya dengan proses penguapan sehingga menghasilkan ekstrak dengan senyawa yang diinginkan. Kelebihan alat ini yaitu kerjanya cepat dan dapat memperoleh kembali pelarut yang digunakan dari hasil proses penguapannya (Sanjaya and Surakusumah, 2014). Metode ekstraksi yang dapat digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi.

Maserasi merupakan metode ekstraksi tanpa pemanasan dimana hasilnya dipengaruhi oleh jenis pelarut serta waktu maserasi (Wijayanti, LPMK, KW, & NPE, 2016). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode



maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yaitu:

a. Perlakuan pendahuluan

Perlakuan pendahuluan dapat berpengaruh terhadap rendemen dan mutu ekstrak yang dihasilkan. Perlakuan pendahuluan meliputi pengecilan ukuran dan pengeringan bahan.

b. Temperatur

Kelarutan bahan yang diekstraksi dan difusivitas akan meningkat dengan meningkatnya temperatur. Namun temperatur yang terlalu tinggi dapat merusak bahan yang diekstrak, sehingga perlu menentukan temperatur optimum.

c. Faktor pengadukan

Pengadukan dapat mempercepat pelarutan dan meningkatkan laju difusi solute. Pegerakan pelarut di sekitar bahan akibat pengadukan dapat mempercepat kontak bahan dengan pelarut dan memindahkan komponen dari permukaan bahan ke dalam larutan dengan jalan membentuk suspensi serta melarutkan komponen tersebut ke dalam media pelarut.

Untuk mencapai proses ekstraksi yang baik, pelarut yang digunakan harus memenuhi kriteria sebagai berikut (Martunus & Helwani, 2005):

1. Kemampuan tinggi melarutkan komponen zat terlarut di dalam campuran.
2. Kemampuan tinggi untuk diambil kembali.
3. Perbedaan berat jenis antara ekstrak dan rafinat lebih besar.
4. Pelarut dan larutan yang akan diekstraksi harus tidak mudah tercampur.

### 2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat mencegah atau memperlambat kerusakan sel akibat radikal bebas. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan senyawa antioksidan yang terdapat secara alami dalam tubuh sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal maupun berasal dari asupan luar tubuh. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan senyawa yang disintesis secara kimia. Salah satu

sumber senyawa antioksidan adalah tanaman dengan kandungan senyawa polifenol yang tinggi (Ulfa, 2016).

Secara umum ada 3 jenis antioksidan yang dapat ditemukan di alam, yaitu:

#### 1. Enzim

Enzim merupakan jenis antioksidan yang tersusun dari protein dan berbagai mineral. Ketika berada dalam tubuh, enzim akan bersintesis. Dan agar enzim dapat berfungsi optimal, maka ia butuh rekan kerja berupa mineral seperti zat besi, tembaga, selenium, magnesium, serta zinc. Hal lain yang tak kalah penting untuk diketahui adalah, kualitas enzim yang diperoleh tubuh juga sangat tergantung dari kualitas makanan sumber protein yang kita konsumsi.

#### 2. Vitamin

Dikarenakan tubuh manusia tidak bisa memproduksi vitamin sendiri, maka kita perlu mendapatkannya dari luar yaitu melalui makanan atau suplemen. Contoh antioksidan vitamin antara lain vitamin A, C, E, asam folat, serta beta karoten, yang masing-masing memiliki kegunaannya sendiri-sendiri.

#### 3. Fitokemikal

Fitokemikal merupakan jenis antioksidan yang digunakan oleh tumbuhan untuk melindungi dirinya dari kerusakan akibat radikal bebas. Untungnya dari hasil pembuktian berbagai riset, kita juga bisa menikmati perlindungan tersebut saat mengonsumsi sumber pangan nabati. Hanya pastikan makanan yang dipilih bukanlah hasil proses, karena makanan yang sudah melewati proses biasanya mengandung fitokemikal sedikit atau bahkan tidak sama sekali. Secara garis besar, fitokemikal terbagi menjadi 4 kategori yaitu karotenoid, flavonoid, polifenol, dan alil sulfida.

Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah *1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*(DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. (Ulfa, 2016).

Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol, radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor

elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril. (Cahyaningsih, 2019).

Aktivitas antioksidan dari ekstrak dinyatakan dalam persen penghambatannya terhadap radikal DPPH. Persentase penghambatan ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorban DPPH dalam metanol dengan absorban sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Selanjutnya, persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC<sub>50</sub>. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Adrianta, 2017).

Menurut Ariyanto (2006), tingkatan kekuatan antioksidan pada metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tingkatan Aktivitas Antioksidan pada Metode DPPH	
Nilai	Tingkatan
IC <sub>50</sub> < 50 µg/mL	Sangat kuat
IC <sub>50</sub> 50-100 µg/mL	Kuat
IC <sub>50</sub> 101-150 µg/mL	Sedang
IC <sub>50</sub> > 150 µg/mL	Lemah

(Ariyanto, 2006)

DPPH memiliki keunggulan dimana metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah, dapat digunakan dalam sample jumlah kecil, sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil dan senyawa radikal DPPH yang digunakan bersifat relatif stabil dibanding metode lainnya. DPPH juga memiliki kekurangan yang mana DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik sehingga agak sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Cahyaningsih, 2019).

- **Alat dan Bahan**

- **Alat**

1. Kompor, satuset panci kukusan bertingkat, Pengaduk, Baskom/tampah. Vacuum sealer
2. Saringan aluminium, ember, Kantong plastic tebal, Gelas Kimia 100 ml Gelas Ukur 100 ml
3. Pipet Ukur 5 ml, Bola Karet, Termometer, Spatula, Neraca Analitik, Kaca Arloji, Plastic Sealer
4. Oven, Peralatan Ekstraksi, Spectrometer UV-Vis

- **Bahan**

Kacang kedelai, ragi tempe/laru, daun secang, bunga telang, daun suji, dan Bahan Analisa Antioksidan.

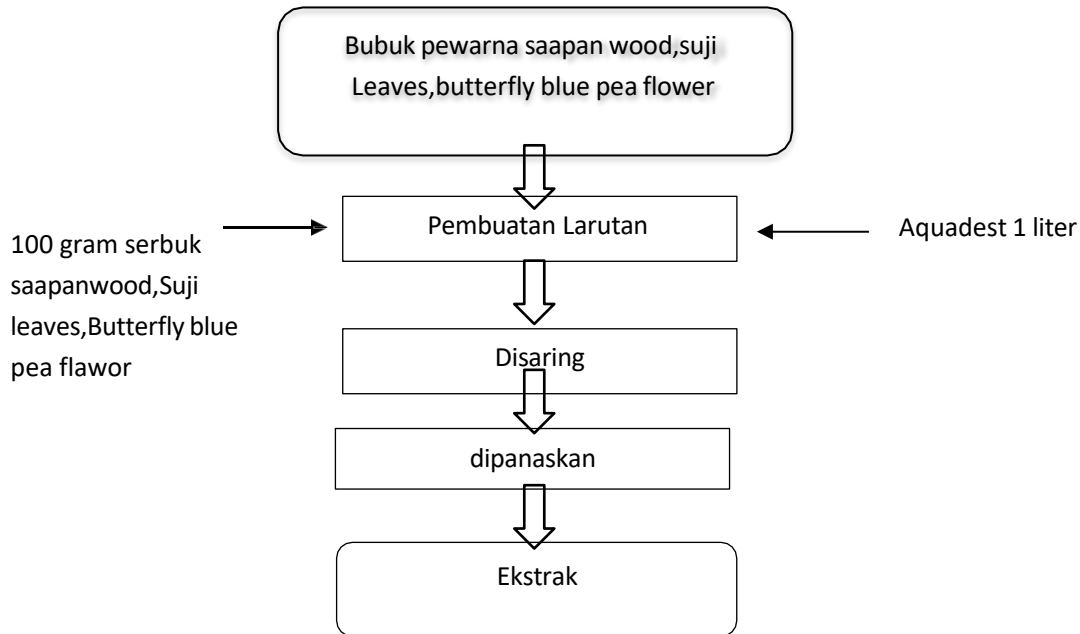
1. DPPH 50 mg
2. Aquadest 10 liter
3. K, LIQUID CHLOROPHYLL, 500 ml

- **Prosedur Penelitian. Persiapan Bahan Baku**

Menyiapkan kacang kedelai sebanyak 5 kg, *Rhizopus sp* /Laru 500 gram

- **Pembuatan Ekstrak warna Saapan wood, Suji Leaves, Butterfly Blue Pea Flower**

Pembuatan ekstrak warna dari Kayu Secang (*Saapan Wood*) dengan proses maserasi. Sesuai prosedur penelitian yang dilakukan oleh Ni Made, Agus dan komang (2019) dengan tahapan sebagai berikut:



#### 2.4. Tempe Kedelai

Tempe yang biasa dikenal oleh masyarakat Indonesia adalah tempe yang menggunakan bahan baku kedelai. Fermentasi kedelai dalam proses pembuatan tempe menyebabkan perubahan kimia maupun fisik. Lewat proses fermentasi ini, biji kedelai mengalami proses penguraian menjadi senyawa sederhana sehingga mudah dicerna. Tempe segar tidak dapat disimpan lama, karena tempe tahan hanya selama 2 x 24 jam, lewat masa itu, kapang tempe (*Rhizopus oligosporus*) mati dan selanjutnya akan tumbuh bakteri atau mikroba perombak protein, akibatnya tempe cepat busuk (Sarwono, 2005).

Tempe kedelai memiliki berbagai manfaat diantaranya sebagai berikut :

- Membantu proses pembentukan tulang dan mencegah osteoporosis. Dimana tempe mengandung zat isoflavon, khususnya daidzein-geinstein serta isoflavon tipe.
- Membantu pembentukan sel-sel darah dan mencegah anemia dengan terdapatnya vitamin B12 dan zat besi.
- Menurunkan kadar kolesterol dalam darah sehingga mencegah penyakit jantung dengan terdapatnya fitosterol asam lemak PUFA, Niasr Calsium serta terdapat senyawa penghambat aktivitas HMG CoA reduktase yang membentuk kolesterol.

- d. Mencegah penyakit diare dan disentri karena kandungan seratnya tinggi sehingga Mencegah kanker serta penyakit degeneratif karena mengandung vitamin E, karotenoid, superoksida, deismutase, isoflavoid yang menstabilkan radikal bebas dalam tubuh.

Adapun, tempe yang baik memiliki kriteria sebagai berikut :

- a. Tekstur : lembut dan antar kedelai terikat erat menjadi satu dalam miselium putih.
- b. Aroma : tidak menghasilkan ammonia berlebihan, aroma khas tempe.
- c. Warna : kuning yang merupakan biosintesis  $\beta$ -carotene.
- d. Rasa : tidak menghasilkan rasa kecut dan manis berlebihan (khas).

### **Nilai Gizi pada Tempe Kedelai**

Penelitian terhadap nilai gizi tempe terus dilakukan dan dari penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa tempe mengandung elemen yang berguna bagi tubuh, yakni: asam lemak, vitamin, mineral, dan antioksidan.

#### **a. Asam Lemak Proses**

Fermentasi pada tempe meningkatkan derajat ketidakjenuhan terhadap lemak. Akibat proses ini, asam lemak tidak jenuh majemuk pada tempe meningkat jumlahnya. Asam lemak tidak jenuh ini mempunyai efek penurunan terhadap kandungan kolesterol serum, sehingga dapat menetralkan efek negatif sterol di dalam tubuh.

#### **b. Vitamin**

Dua kelompok vitamin terdapat pada tempe, yaitu larut air (vitamin B kompleks) dan larut lemak (vitamin A, D, E, dan K). Tempe merupakan sumber vitamin B yang sangat potensial. Jenis vitamin yang terkandung dalam tempe antara lain vitamin B1, B2, asam pantotenat, asam nikotinat, vitamin B6, dan B12. Vitamin B12 umumnya terdapat pada produk-produk hewani dan tidak dijumpai pada makanan nabati (sayuran, buah-buahan, dan bijibijian), namun tempe mengandung vitamin B12 sehingga tempe menjadi satu-satunya sumber vitamin yang potensial dari bahan pangan nabati. Kenaikan kadar vitamin B12 paling mencolok pada pembuatan tempe. Kadar vitamin B12 dalam tempe berkisar antara 1,5 sampai 6,3 mikrogram per 100 gram tempe kering. Jumlah ini telah dapat

mencukupi kebutuhan vitamin B12 seseorang per hari. Dengan adanya vitamin B12 pada tempe, para vegetarian tidak perlu merasa khawatir akan kekurangan vitamin B12, sepanjang mereka melibatkan tempe dalam menu hariannya.

c. Mineral

Tempe mengandung mineral makro dan mikro dalam jumlah yang cukup. Jumlah mineral besi, tembaga, dan zink. Kapang tempe dapat menghasilkan enzim fitase yang akan menguraikan asam fitat (yang mengikat beberapa mineral) menjadi fosfor dan inositol. Dengan terurainya asam fitat, mineral-mineral tertentu (seperti besi, kalsium, magnesium, dan zink) menjadi lebih tersedia untuk dimanfaatkan tubuh.

d. antioksidan

Di dalam tempe juga ditemukan suatu zat antioksidan dalam bentuk isoflavon yang sangat dibutuhkan tubuh untuk menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas. Dalam kedelai terdapat tiga jenis isoflavone yaitu daidzein, glisitein, dan genistein.

Penuaan (aging) dapat dihambat bila dalam makanan yang dikonsumsi sehari-hari mengandung antioksidan yang cukup. Karena tempe merupakan sumber antioksidan yang baik, konsumsinya dalam jumlah cukup secara teratur dapat mencegah terjadinya proses penuaan dini.

## 2.5. STARTER (*Rhizopus Oligosporus*)

### Cara Menggunakan Jamur Tempe Kedelai ke Dalam Laru

Cara yang tepat untuk mendapatkan starter adalah dengan menggunakan jamur tempe kedelai sebagai pengganti laru. Caranya sebagai berikut: tempe kedelai dirajang kecil-kecil kemudian bias disangrai atau dijemur di terik matahari. Setelah kering tempe ditumbuk menjadi tepung dan siap digunakan. Penggunaan dicampurkan dengan bahan baku yang telah siap ketahap peragian.

### Laru Bubuk Buatan Sendiri

Diperlukan bahan-bahan sebagai berikut: tempe segar, beras atau nasi, tepung terigu dan air. Peralatan yang dibutuhkan adalah besek bamboo, sendok, wajan, alu, ayakan baskom dan kompor. Proses pembuatannya adalah sebagai

berikut : pertama-tama jamur tempe kedelai di rajang tipis-tipis agar jamur tempe kedelai mudah dikeringkan dan digilas. Setelah dirajang tempe dijemur hingga kering kemudian irisan tempe kedelai ditumbuk menjadi tepung dan diayak halus. Menyiapkan nasi yang baru tetapi dingin dan dicampur dengan tepung tempe kedelai sambal diaduk sampai rata. Perbandingan nasi dan tepung tempe 1: 1.

Campuran ini diperam yaitu membungkus campuran dengan daun pisang lalu dimasukkan dalam besek tertutup rapat selama semalam. Jika sudah ditumbuhi jamur berarti sudah siap dikeringkan dengan dijemur diterik matahari. Setelah kering ditumbuk sampai halus kemudian diayak kemudian dicampur dengan tepung nasi yang telah dibubuhi jamur dengan perbandingan 18: 1. Pencampuran harus dilakukan secara merata.

## 2.6. Kedelai

Kedelai yang dapat diolah menjadi tempe adalah biji tanaman kedelai (*Glycine max*) yang kini telah dibudidayakan hampir di seluruh dunia. Tanaman kedelai berbentuk semak pendek setinggi 30-100 cm. Kedelai yang telah dibudidayakan tersebut diperkirakan berasal dari jenis liar *Glycine soya* alias *Glycine usuriensis* yang banyak terdapat di Cina, Jepang, Korea, dan Rusia. Tanaman kedelai liar tumbuh rapat. Buahnya berbentuk polong. Bijinya bulat lonjong seperti kedelai biasa dan kulit bijinya sangat tebal sehingga embrio dan keping biji dapat terlindung lebih baik dibandingkan biji kedelai biasa (Sarwono, 2005).

Jenis kedelai dapat dibedakan menjadi empat macam menurut *Hyeronymus* (2003) antara lain:

### a. Kedelai Kuning

Kedelai kuning adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna kuning atau putih. Apabila dipotong melintang memperlihatkan warna kuning pada irisan keping bijinya dan biasanya dibuat tahu atau tempe.

### b. Kedelai Hitam

Kedelai hitam adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna hitam.

### c. Kedelai Hijau

Kedelai hijau adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna hijau, apabila dipotong melintang memperlihatkan warna hijau pada irisan keping bijinya.



d. Kedelai Coklat

Kedelai coklat adalah kedelai yang kulit bijinya berwarna coklat.

Adapun, syarat mutu biji kedelai yang baik yaitu :

- a. Bebas dari sisa tanaman (kulit polog, potongan batang atau ranting), batu kerikil, tanah, atau biji – biji lainnya.
- b. Kacang kedelai tidak terkena serangan hama penyakit.
- c. Kacang kedelai tidak rusak dan tidak kecil.
- d. Kulit kacang kedelai tidak keriput.

**Klasifikasi Tanaman Kedelai**

Menurut Rukmana dan Yuniarsih (1996) kedudukan tanaman kedelai dalam sistematik tumbuhan (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*  
Divisi : *Spermatophyta*  
Sub-divisi : *Angiospermae*  
Kelas : *Dicotyledonae*  
Ordo : *Polypetales*  
Famili: : *Leguminosae (Papilionaceae)*  
Sub-famili : *Papilionoideae*  
Genus : *Glycine*  
Spesies : *Glycine max* (L.) Meril, sinonim dengan *G. soya* (L.) S dan Zucc.



Gambar 9. Kedelai

### Nilai Gizi Kedelai

Kedelai utuh mengandung berbagai nutrisi penting. Dalam 100 gram kedelai utuh mengandung mangan, selenium, tembaga, kalium, fosfor, magnesium, zat besi, kalsium, vitamin B6, folat, riboflavin (vitamin B2), thiamin (vitamin B1), dan vitamin K. Selain itu kedelai juga mengandung :

- 173 kalori
- 9 gram lemak
- 10 gram karbohidrat (6 gram diantaranya adalah serat)
- 17 gram protein

Kedelai merupakan sumber protein yang bagus dibandingkan dengan kandungan protein pada tumbuhan yang lain, walaupun tidak sebgus daging atau telur. Mengolah kedelai pada suhu tinggi dapat menyebabkan beberapa protein rusak.

Dari kandungan – kandungan tersebut, kacang kedelai memiliki berbagai manfaat bagi tubuh, antarlain :

a. Menurunkan kadar kolesterol dalam darah

Menurut penelitian, kedelai memiliki efek yang baik dalam penurunan kolesterol karena protein kedelai dapat mengurangi kolesterol total dan LDL. Namun belum ada penelitian yang menunjukkan kedelai dapat menurunkan resiko penyakit jantung.

b. Menurunkan resiko terjadinya kanker payudara

Menurut penelitian, mengkonsumsi makanan yang mengandung kedelai tinggi dapat menurunkan resiko terjadinya kanker payudara. Selain itu juga ditemukan bahwa mengkonsumsi kedelai sebelum masa menopause, seseorang juga tetap mendapatkan perlindungan dari kanker payudara walaupun sudah tidak atau jarang mengkonsumsi kedelai.

c. Menurunkan kadar gula dalam darah

Menurut beberapa penelitian menunjukkan bahwa mengkonsumsi makanan yang mengandung kedelai dapat membantu menurunkan kadar gula dalam darah pada penderita diabetes mellitus.

d. Mencegah komplikasi ginjal pada penderita diabetes mellitus

Kandungan isoflavon pada kedelai dapat membantu mencegah atau mengobati penyakit ginjal pada penderita diabetes mellitus.

e. Mengurangi durasi terjadinya diare

Susu formula yang mengandung kedelai dapat membantu mengurangi durasi diare dibandingkan dengan susu sapi. Namun terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa konsumsi susu kedelai pada orang dewasa tidak dapat menurunkan resiko diare.

f. Mengurangi sensasi panas pada gejala menopause

Mengonsumsi protein kedelai dapat membantu mengatasi sensasi panas yang disebabkan oleh menopause. Namun, tidak mengurangi gejala menopause lainnya.

g. Meningkatkan kepadatan mineral tulang

Menurut beberapa penelitian menunjukkan bahwa protein kedelai dapat meningkatkan kepadatan mineral tulang. Kedelai juga dapat mengurangi resiko terjadinya patah tulang pada beberapa wanita.

## 2.7. Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses metabolisme yang menghasilkan produk-produk pecahan baru dan substrat organik karena adanya aktivitas atau kegiatan mikroba. Fermentasi kedelai menjadi tempe oleh *Rhizopus oligosporus* terjadi pada kondisi aerob obligat. Hasil fermentasi tergantung pada fungsi bahan pangan atau substrat mikroba dan kondisi sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhannya. Adanya fermentasi dapat menyebabkan beberapa perubahan sifat kedelai tersebut. Senyawa yang dipecah dalam proses fermentasi adalah karbohidrat (Rosningsih, 2000).

Fermentasi dapat terjadi pada tempe menggunakan beberapa kapang selain dengan menggunakan kapang *Rhizopus oligosporus* seperti *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus arrhizus*, dan *Rhizopus stolonifera*. Kapang-kapang ini akan membentuk ragi tempe. Tempe akan terlihat terdapat warna putih. Warna putih ini terbentuk dari tumbuhnya miselia jamur yang menghasilkan beberapa enzim. Enzim-enzim ini membantu pembentukan senyawa yang dapat cepat digunakan oleh tubuh (Penderson, 2004).

Selama proses fermentasi, kedelai akan mengalami perubahan baik fisik maupun kimianya. Protein kedelai dengan adanya aktivitas proteolitik kapang akan diuraikan menjadi asam-asam amino, sehingga nitrogen terlarutnya akan mengalami peningkatan. Adanya peningkatan dari nitrogen terlarut maka pH juga

akan mengalami peningkatan. Nilai pH untuk tempe yang baik berkisar antara 6,3 sampai 6,5. Kedelai yang telah difermentasi menjadi tempe akan lebih mudah dicerna. Selama proses fermentasi karbohidrat dan protein akan dipecah oleh kapang menjadi bagian-bagian yang lebih mudah larut, mudah dicerna dan ternyata bau langu dari kedelai juga akan hilang (Brooks, 2005). Kadar air kedelai pada saat sebelum fermentasi mempengaruhi pertumbuhan kapang. Selama proses fermentasi akan terjadi perubahan pada kadar air dimana setelah 24 jam fermentasi, kadar air kedelai akan mengalami penurunan menjadi sekitar 61% dan setelah 40 jam fermentasi akan meningkat lagi menjadi 64% (Sudarmaji dan Markakis, 2009).

Perubahan-perubahan lain yang terjadi selama fermentasi tempe adalah berkurangnya kandungan oligosakarida penyebab flatulence. Penurunan tersebut akan terus berlangsung sampai fermentasi 72 jam. Selama fermentasi, asam amino bebas juga akan mengalami peningkatan dan peningkatannya akan mencapai jumlah terbesar pada waktu fermentasi 72 jam (Murata et al., 2004). Kandungan serat kasar dan vitamin akan meningkat pula selama fermentasi kecuali vitamin B1 atau yang lebih dikenal dengan thiamin (Shurtleff dan Aoyagi, 2007). Tempe segar mempunyai aroma lembut seperti jamur yang berasal dari aroma miselium kapang bercampur dengan aroma lezat dari asam amino bebas dan 11 aroma yang ditimbulkan karena penguraian lemak, makin lama fermentasi berlangsung, aroma yang lembut berubah menjadi tajam karena terjadi pelepasan amonia (Astawan, 2004).

## **2.8. Mikroorganisme Pada Fermentasi**

Untuk membuat tempe dibutuhkan inokulum atau laru tempe atau ragi tempe. Mikroba yang sering dijumpai pada laru tempe adalah kapang jenis *Rhizopus oligosporus*, atau kapang dari jenis *Rhizopus oryzae*. Pada laru murni campuran selain kapang *Rhizopus oligosporus*, dapat dijumpai pula kultur murni *Klebsiella*. Selain bakteri *Klebsiella*, ada beberapa jenis bakteri yang berperan pula dalam proses fermentasi tempe diantaranya adalah: *Bacillus* sp, *Lactobacillus* sp, *Pediococcus* sp, *Streptococcus* sp, dan beberapa genus bakteri yang memproduksi vitamin B12. Adanya bakteri *Bacillus* sp pada tempe merupakan kontaminan, sehingga hal ini tidak diinginkan (Suriaman, 2008).

### ***Rhizopus sp.***

Jamur *Rhizopus oryzae* merupakan jamur yang sering digunakan dalam pembuatan tempe (Soetrisno, 1996). Jamur *Rhizopus oryzae* aman dikonsumsi karena tidak menghasilkan toksin dan mampu menghasilkan asam laktat (Purwoko dan Pamudyanti, 2004). Jamur *Rhizopus oryzae* mempunyai kemampuan mengurai lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino (Septiani, 2004). Selain itu jamur *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan protease (Margiono, 1992). Menurut Sorenson dan Hesseltine (1986), *Rhizopus sp* tumbuh baik pada kisaran pH 3,4-6. Pada penelitian semakin lama waktu fermentasi, pH tempe semakin meningkat sampai pH 8,4, sehingga jamur semakin menurun karena pH tinggi kurang sesuai untuk pertumbuhan jamur. Secara umum jamur juga membutuhkan air untuk pertumbuhannya, tetapi kebutuhan air jamur lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri. Selain pH dan kadar air yang kurang sesuai untuk pertumbuhan jamur, jumlah nutrisi dalam bahan, juga dibutuhkan oleh jamur.

### **Morfologi *Rhizopus sp.***



Gambar 10. ***Rhizopus sp***

*Rhizopus sp.* memiliki ciri morfologi sebagai berikut.

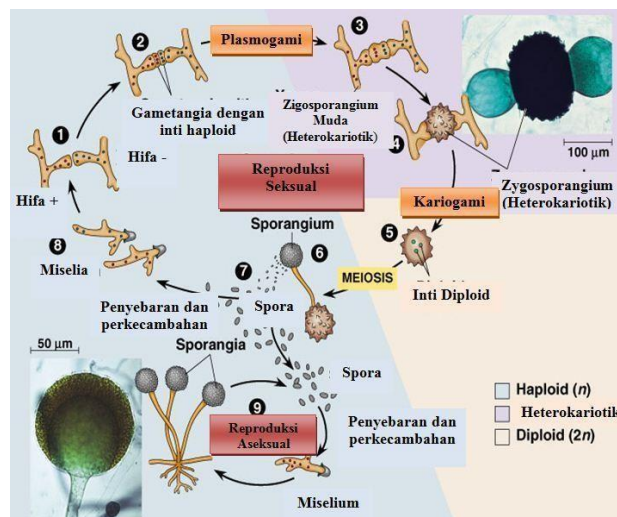
- Terdiri dari benang hifa bercabang membentuk miselium.
- Hifa tidak bersekat (bersifat sinositik).
- Hifa atau sekat antar hifa ditemukan pada saat sel reproduksi terbentuk.
- Rhizopus sp* mempunyai koloni yang berwarna keputihan menjadi abu-abu kecoklatan hingga coklat kekuningan.
- Rhizoid dari jamur ini warna coklat, bercabang dan berlawanan arah dengan sporangiofor bisa muncul langsung dari stolon tanpa adanya rhizoid.

- f. Sporangiofor bisa satu atau berkelompok kadang-kadang meyerupai garpu, dinding berduri, warna coklat gelap hingga berwarna coklat kehitaman dengan diameter 50- 200  $\mu\text{m}$ .
- g. Kolumela berbentuk usia biakan, serta mencapai tinggi kurang lebih 10 mm.
- h. Stolonna berdinding halus atau agak kasar dan hampir tidak berwarna, sporangiospora jamur ini berbentuk bulat atau tidak, biasanya berbentuk poligonal, terdapat garis pada permukannya dan mempunyai panjang sekitar 4-10  $\mu\text{m}$ .
- i. Khlamidospora berbentuk bulat, dengan diameter 10-35  $\mu\text{m}$  atau berbentuk elips dan berukuran (8-130)x(16-24)  $\mu\text{m}$ .
- j. Spesies ini dapat tumbuh pada suhu optimum yaitu 35°C dengan suhu minimum 5- 7 °C dan suhu maksimum pertumbuhannya yaitu 35-44°C (Ganjar, 2000).

#### Habitat pada *Rhizopus sp.*:

- *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus azygosporus* berperan pada pembuatan tempe.
- *Rhizopus nigricans*, hidup pada tomat dan strawberry/buah-buahan (pengurai produk organisme) *Rhizopus stolonifer*, tumbuh pada roti basi.

#### Siklus Hidup/Reproduksi *Rhizopus sp.*



Gambar 11. Siklus Hidup/Reproduksi *Rhizopus sp.*

### **Tahap proses reproduksi aseksual (spora vegetatif)**

- Pada fase aseksual, sporangium bulat berwarna hitam berkembang pada ujung hifa yang tegak.
- Pada masing-masing sporangium, di dalamnya terdapat ratusan spora haploid berkembang dan tersebar melalui udara.
- Jika, ada Spora yang jatuh pada makanan yang lembab maka akan berkecambah, tumbuh menjadi miselia baru. Apabila kondisi di lingkungan sekitar semakin memburuk, seperti misalnya makanan yang sudah habis dan ada kehadiran miselia dari tipe perjodohan yang berlawanan (dengan nukleus yang secara genetik berbeda), maka spesies *Rhizopus* akan bereproduksi secara seksual.

### **Tahap proses reproduksi seksual (perkawinan antara dua hifa)**

- Miselia dengan tipe perjodohan (mating tipe) yang berlawanan yaitu hifa (+) dan hifa (-) berdekatan.
- Hifa (+) dan hifa (-) membentuk cabang hifa atau perluasan hifa yang disebut gametangia. Kedua gametangia itu akan mengandung banyak inti haploid yang dibatasi oleh suatu septum.
- Dinding kedua gametangia tersebut pecah dan terjadi penyatuan sitoplasma (plasmogami). Inti haploid hifa (+) dan hifa (-) bergabung membentuk zigosporangium ( $2n$ ) yang dikariotik. Sel ini membentuk suatu lapisan ber dinding kasar dan tebal yang dapat menahan kondisi kering dan lingkungan yang tidak menguntungkan lainnya selama beberapa bulan.
- Ketika kondisi menjadi lebih baik kariogami terjadi, nukleus yang berpasangan tersebut menyatu dan secara cepat diikuti dengan pembelahan meiosis.
- Lalu Zigospora akan mengakhiri dormansinya, dan akan berkecambah sebagai suatu sporangium pendek yang menyebarkan spora haploid yang secara genetik beraneka ragam.
- Spora itu akan berkecambah dan tumbuh menjadi miselia baru.

## **2.9. Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Tempe Kedelai**

Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam pembuatan tempe menurut Purwadaksi (2010) adalah sebagai berikut :

a. Oksigen

Oksigen dibutuhkan untuk pertumbuhan kapang. Aliran udara yang terlalu cepat menyebabkan proses metabolisme akan berjalan cepat sehingga dihasilkan panas yang dapat merusak pertumbuhan kapang. Oleh karena itu apabila digunakan kemasan plastik sebagai bahan pembungkusnya maka sebaiknya pada kemasan tersebut diberi lubang dengan jarak antara lubang yang satu dengan lubang lainnya sekitar 2 cm.

b. Uap air

Uap air yang berlebihan akan menghambat pertumbuhan kapang. Hal ini disebabkan karena setiap jenis kapang mempunyai aw optimum untuk pertumbuhannya.

c. Suhu

Kapang tempe dapat digolongkan kedalam mikroba yang bersifat mesofilik, yaitu dapat tumbuh baik pada suhu ruang (25-27°C). Oleh karena itu, maka pada waktu pemeraman, suhu ruangan tempat pemeraman perlu diperhatikan.

d. Keaktifan Laru

Laru yang disimpan pada suatu periode tertentu akan berkurang keaktifannya. Karena itu pada pembuatan tempe sebaiknya digunakan laru yang belum terlalu lama disimpan agar dalam pembuatan tempe tidak mengalami kegagalan.

### **Fase Fermentasi Tempe Kedelai**

Inkubasi dilakukan pada suhu 25°-37° C selama 36-48 jam. Selama inkubasi terjadi proses fermentasi yang menyebabkan perubahan komponen-komponen dalam biji kedelai. Persyaratan tempat yang dipergunakan untuk inkubasi kedelai adalah kelembaban, kebutuhan oksigen dan suhu yang sesuai dengan pertumbuhan jamur (Hidayat, dkk. 2006).

Proses fermentasi tempe dapat dibedakan atas tiga fase yaitu :

- a. **Fase pertumbuhan cepat (0-30 jam fermentasi)** terjadi kenaikan jumlah asam lemak bebas, kenaikan suhu, pertumbuhan jamur cepat, terlihat dengan terbentuknya miselia pada permukaan biji makin lama makin lebat, sehingga menunjukkan masa yang lebih kompak.
- b. **Fase transisi (30-50 jam fermentasi)** merupakan fase optimal fermentasi tempe dan siap untuk dipasarkan. Pada fase ini terjadi penurunan suhu, jumlah asam



lemak yang dibebaskan dan pertumbuhan jamur hampir tetap atau bertambah sedikit, flavor spesifik tempe optimal, dan tekstur lebih kompak.

**c. Fase pembusukan atau fermentasi lanjut (50-90 jam fermentasi)**

Terjadi kenaikan jumlah bakteri dan jumlah asam lemak bebas, pertumbuhan jamur menurun dan pada kadar air tertentu pertumbuhan jamur terhenti, terjadi perubahan flavor karena degradasi protein lanjut sehingga terbentuk amonia.

Dalam pertumbuhannya *Rhizopus* akan menggunakan Oksigen dan menghasilkan CO<sub>2</sub> yang akan menghambat beberapa organisme perusak. Adanya spora dan hifa juga antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan banyak mikrobia.

## **2.10. Pengemasan Tempe**

Kemasan yang dipergunakan untuk fermentasi tempe secara tradisional yaitu daun pisang, jati, waru atau bambu, selanjutnya dikembangkan penggunaan kemasan plastik yang diberi lubang.

**a. Kemasan Plastik**



Gambar 12. Tempe

Kemasan plastik memiliki kelebihan yaitu kuat, ringan, tidak berkarat serta dapat diberi warna, sedangkan kelemahannya adalah molekul kecil yang terkandung dalam plastik yang dapat melakukan migrasi ke dalam bahan makanan yang dikemas (Winarno, 1997).

b. Kemasan Daun Pisang



Gambar 13. Tempe Kemasan Daun pisang

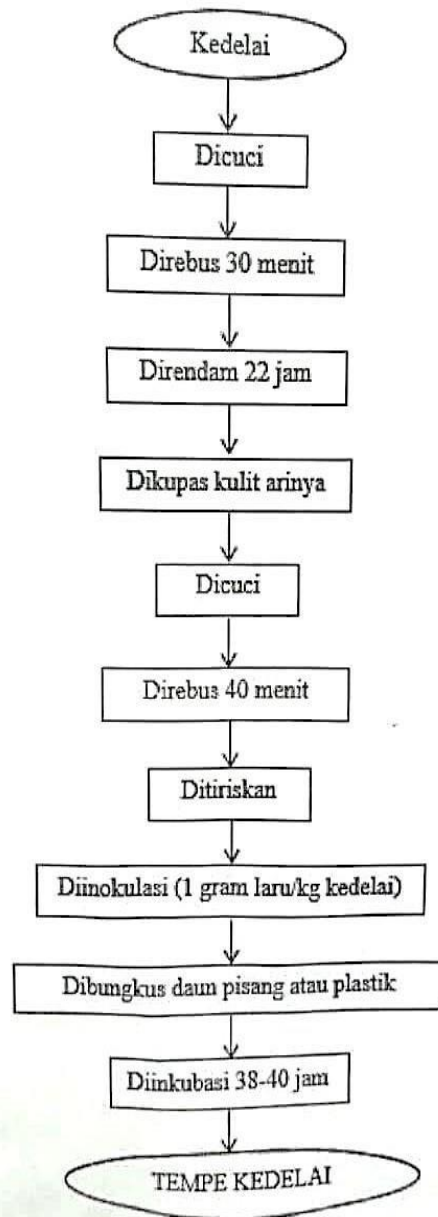
Daun pisang memberi aroma sedap pada pembuatan tempe. Daun pisang memang banyak diperjual-belikan untuk dimanfaatkan sebagai pembungkus alami yang 12 sangat serbaguna dan relatif mudah ditemukan. Namun daun pisang memiliki kelemahan yaitu mudah sobek, tetapi jika dipanaskan terlebih dahulu daun pisang menjadi agak layu dan tidak mudah sobek. Daun pisang juga relatif mudah dibersihkan, cukup mengelap permukaannya dengan kain dan aneka makanan dapat dibungkus dengannya tanpa perlu menambahkan pelapis (Sarwono, 2005).


### PROSEDUR PERCOBAAN

1. Pilih kedelai berkualitas baik, lalu dibersihkan dan dicuci dengan air bersih
2. Rebas selama 30 menit, lalu direndam dalam air perebus selama 22 jam, selama satu malam bila  $\text{pH} = 5$  (dengan cara menambahkan asam laktat 10 ml/liter air perebus)
3. Rendam dan buang kulit ari kedelai lalu dicuci dan direbus/kukus lagi dengan air baru dan bersih selama 40-90 menit. Kemudian rebusan kedelai ditiriskan pada tampah beralaskan daun pisang lalu didinginkan sambil diaduk dan diratakan.
4. Setelah rebusan kedelai dingin dan diratakan, taburkan laru tempe secara merata dengan alat pengaduk
5. Kedelai yang sudah dicampur laru dibungkus dengan plastic yang telah ditusuk-tusuk dengan jarum, lalu disimpan (diperam) pada tempat/rak yang aman.
6. Fermentasi biji kedelai menjadi tempe memerlukan waktu 20-30 jam (2-3 hari).

7. Produk tempe kedelai sudah jadi.

SKEMA PROSES PEMBUATAN TEMPE



<b>TBP</b>	<b>FERMENTASI TEMPE KEDELAI BERWARNA ATAU TEMPE PELANGI DARI BUTERFLY BLUE PEA FLOWER/BUNGA TELANG (<i>Clitoria ternatea</i>) KLOROFIL (<i>Chlorophyll</i>), DAUN BAYAM MERAH (<i>Amaranthus tricolor</i>), DAN TEMPE ORIGINAL (<i>Rhizopus oligosporus</i> dan <i>R. oryzae</i>)</b>	
------------	---	---

#### A. TUJUAN PERCOBAAN

- Mengetahui cara pembuatan produk tempe berwarna dari kedelai dengan proses fermentasi
- Mengetahui bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan tempe kedelai berwarna
- Mahasiswa dapat mempelajari cara membuat tempe berwarna dengan bahan pewarna alami seperti kayu secang, bunga telang, daun suji, dan ekstrak kunyit dengan proses fermentasi

#### B. DASAR TEORI

Masyarakat Indonesia tentu sudah mengenal tempe sebagai makanan sehari-hari dan mudah dijumpai di berbagai daerah. Tempe termasuk makanan sederhana yang digemari banyak orang dengan harganya terjangkau, rasanya enak, dan bisa diolah jadi berbagai jenis makanan. Bahkan, tempe juga jadi makanan andalan para vegetarian sebagai substitusi protein hewani. Tak hanya lezat dan mudah didapat, tempe juga disebut-sebut sebagai kelompok *superfood* karena kaya nutrisi, seperti protein tinggi dan mengandung berbagai vitamin dan mineral. Tempe merupakan hasil fermentasi kedelai yang umumnya saat dijual umumnya berbentuk bongkahan persegi atau lembaran dan dibungkus satu per satu dengan daun pisang. Penampilan tempe identik dengan warna putih di bagian luar dan bagian dalamnya berwarna kuning kecokelatan khas warna kedelai. Di pasar hingga supermarket, bentuk tempe saat dijual kurang lebih serupa. Saat ini sudah ada tempe yang penampilannya sungguh menarik berbentuk persegi panjang, pipih, kubus dalam kemasan plastik transparan, ada juga yang dibungkus dengan daun-daunan, saat ini modifikasi tempe sangat beragam dan salah satunya tempe berwarna yang sudah mulai dikembangkan di kalangan masyarakat.

Tempe adalah makanan yang dibuat dari kacang kedelai yang difermentasikan menggunakan kapang *rhizopus* (ragi tempe). Selain itu terdapat pula makanan serupa tempe yang tidak berbahan kedelai yang juga disebut tempe. Kata «tempel» diduga berasal dari bahasa Jawa Kuno. Pada zaman Jawa kuno terdapat makanan berwarna putih terbuat dari tepung sagu yang disebut tumpi. Tempe yang juga berwarna putih terlihat memiliki kesamaan dengan makanan tumpi tersebut. Makanan tradisional ini sudah dikenal sejak berabad-abad lalu, terutama dalam tatanan budaya makan masyarakat Jawa, khususnya di Yogyakarta dan Surakarta. Abad ke-16 di Jawa telah ditemukan kata tempe, misalnya dengan penyebutan nama hidangan *jae santen tempe* (sejenis masakan tempe dengan santan) dan *kadhele tempe srundengan*. Dalam catatan sejarah yang tersedia lainnya menunjukkan bahwa mungkin pada mulanya tempe diproduksi dari kedelai hitam, berasal dari masyarakat pedesaan tradisional Jawa—mungkin dikembangkan di daerah Mataram, Jawa Tengah, dan berkembang sebelum abad ke-16. Tempe merupakan makanan tradisional yang telah dikenal di Indonesia, yang dibuat dengan cara fermentasi atau peragian. Pembuatannya merupakan hasil industri rakyat. Tempe diminati oleh masyarakat, selain harganya murah, juga memiliki kandungan protein nabati yang tinggi.



Gambar 14. Tempe alami tempe pelangi

### Menggunakan Jamur Tempe Kedelai ke dalam Laru

Cara yang tepat untuk mendapatkan starter adalah dengan menggunakan jamur tempe kedelai sebagai pengganti laru. Caranya sebagai berikut :

tempe kedelai dirajang kecil – kecil kemudian bisa disangrai atau dijemur di terik matahari. Setelah kering tempe ditumbuk menjadi tepung dan siap digunakan. Penggunaan dicampurkan dengan bahan baku yang telah siap ke tahap peragian.

Syarat mutu biji kedelai yang baik :

- Bebas dari sisa tanaman (kulit polong, potongan batang atau ranting), batukrikil, tanah atau biji-bijiannya
- Biji kecipir tidak terkena serangan hama dan penyakit
- Biji kecipir tidak rusak dan tidak kecil
- Kulit biji tidak keriput

Komposisi Kedelai per 100 gram Bahan

KOMPONEN	KADAR (%)
Protein	35-45
Lemak	18-32
Karbohidrat	12-30
Air	7

#### 1. Buterfly Blue Pea Flower / *Clitoria ternatea* (Bunga Telang)

*Clitoria ternatea* ialah bunga yang dapat tumbuh sebagai tanaman hias maupun tanaman liar berkelopak tunggal mempunyai warna ungu. Selain itu, sejak zaman dulu *Clitoria ternatea* di dunia tradisional dikenal sebagai alternatif obat terapi mata serta perwarna alami makanan. Belakangan ini *Clitoria ternatea* juga sedang ramai dikonsumsi di seluruh dunia akibat dari tren the bunga yang populer melalui social media di Inggris dengan sebutan Butterfly Pea Tea, Andriani dan Murtisiwi, (2018), gambar bunga telang ditunjukkan pada gambar berikut :



Gambar 15. Bunga Telang

**Kandungan Fitokimia pada Bunga telang (*Clitoria ternatea*.)**Kandungan Senyawa Fitokimia Tanaman *Clitoria ternatea*.

Senyawa	Mmol/mg bunga
Antosianin	5,40 ± 0,23
Flavonoid	20,07 ± 0,55
Flavonol glikosida	14,66 ± 0,33
Kaempferol glikosida	12,71 ± 0,46
Mirisetin glikosida	0,04 ± 0,01
Quersetin glikosida	1,92 ± 0,12

sumber : Anthika *et al.*, 2015 Tanaman *Clitoria ternatea*

Diketahui mengandung berbagai macam senyawa fitokimia. Fitokimia adalah senyawa kimia alami pada tanaman yang memiliki efek yang baik secara fisiologis terhadap manusia. Beberapa kandungan fitokimia pada tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) dimuat dalam Tabel.

*Clitoria ternatea* mempunyai warna selain ungu yaitu biru ada juga merah dikarenakan terkandung *anthocyanin* di dalamnya. Kandungan fitokimia *anthocyanin* tersebut mempunyai kadar konstan/kestabilan yang bagus sehingga mampu digunakan untuk pewarna nonsintetik di dunia industri pangan. Senyawa flavonol/flavonoid pada *Clitoria ternatea* (bunga telang) mampu digunakan untuk sumber vitamin C/antioksidan (Makasana *et al.*, 2017).

**Manfaat dari Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) :**

**a. Antioksidan**

*Clitoria ternatea* mengandung antioksidan. Aktivitas antioksidan dalam mengelola stres oksidatif pada sistem biologis berlangsung melalui berbagai mekanisme seperti penangkapan radikal bebas, penghambatan enzim oksidatif, sebagai pengkelat ion logam, dan sebagai kofaktor enzim antioksidan (Marpaung, 2020). Dapat dibuktikan dengan warna kelopak bunganya yang terdapat antosianin. Zat tersebut bersifat sebagai antioksidan selain itu juga sebagai pigmen yang berasal dari flavonoid. Berbagai ekstrak solven daun *Clitoria ternatea* digunakan untuk menguji potensi antioksidannya dengan 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH).

Semua ekstrak tersebut menunjukkan potensi aktivitas radikal bebas seiring peningkatan konsentrasi ekstrak – yang paling ampuh adalah ekstrak methanol, lalu kloroform kemudian terakhir adalah ekstrak petroleum ether (Wulan *et al.*, 2019).

**b. Anti mikroba**

Ekstrak bunga telang mampu menekan pertumbuhan kuman *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Aeromonas formicans*, *Aeromonashydrophila* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan pemeriksaan yang sudah dilakukan, ekstrak dari daun serta akarnya dinilai paling/sangat efektif membunuh berbagai jenis mikroorganisme, dan daun bunga telang ini menunjukkan hasil aktivitas anti-fungi sangat efektif untuk *Aspergillus niger* (Suganda dan Adhi, 2017).

**2. Klorofil (*Chlorophyll*)**

Klorofil atau pigmen utama tumbuhan banyak dimanfaatkan sebagai food supplement yang bisa membantu mengoptimalkan fungsi metabolik, sistem imunitas, detoksifikasi, meredakan radang (inflamatorik) dan menyeimbangkan sistem hormonal. Klorofil juga merangsang pembentukan darah karena menyediakan bahan dasar dari pembentuk haemoglobin. Salah satu suplemen makanan yang telah dikonsumsi adalah liquid chlorophyll atau chlorophyllin yang berbahan dasar dari ekstrak klorofil daun alfalfa (*Medicago sativa* L.). Suplemen tersebut telah banyak diperdagangkan sebagai suplemen siap saji.





Gambar 16. Klorofil

Penggunaan ekstrak daun alfalfa sebagai food supplement mengalami kendala daerah tumbuh. Hal ini disebabkan karena jenis tanaman tersebut merupakan anggota Leguminosae dari daerah subtropik, sehingga budidayanya di Indonesia memerlukan iklim yang sejuk. Hal ini pula yang mendorong penelitian dalam rangka mencari sumber klorofil dari berbagai jenis tanaman. Tanaman yang dapat digunakan sebagai food supplement adalah sayuran hijau yang sering dikonsumsi sehari-hari oleh masyarakat Indonesia yaitu daun katuk (*Sauropus androgynus*), kangkung (*Ipomoea aquatica*) dan bayam (*Amaranthus spp*). Tanaman tersebut dapat dengan mudah tumbuh di Indonesia, sehingga mudah didapatkan di pasar-pasar tradisional dengan harga murah, bahkan bisa dibudidayakan sendiri oleh masyarakat Indonesia.

### **Manfaat Dari Klorofil :**

#### **1. Menghilangkan Jerawat**

Klorofil yang digunakan secara topikal atau dioleskan ke permukaan kulit, juga dipercaya dapat mengurangi jerawat. Untuk mendapatkan manfaat ini, Anda dapat menggunakan gel yang mengandung klorofil. Namun sebelum menggunakannya, pastikan bahwa produk tersebut sudah terdaftar secara resmi di Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Sebelum dioleskan ke wajah, coba untuk oleskan sedikit ke tangan dan tunggu reaksinya. Jika tidak ada reaksi alergi, maka Anda bisa oleskan gel tersebut ke wajah sesuai instruksi kemasan.

## **2. Sebagai Deodoran Alami**

Kegunaan klorofil sebagai deodorant alami untuk mengurangi bau di tubuh sempat menuai pro dan kontra. Namun hingga saat ini masih banyak produk seperti deodoran dan obat kumur yang mengandung komponen ini. Beberapa orang juga mengonsumsi suplemen klorofil untuk mengurangi bau badan.

## **3. Mempercepat Penyembuhan Luka**

Menggunakan klorofil untuk merawat luka sebenarnya sudah pernah dilakukan pada periode tahun 1940 hingga 1950an. Di masa tersebut, klorofil digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka operasi dan mencegah terjadinya infeksi. Sementara itu, berdasarkan penelitian baru-baru ini, obat yang mengandung klorofil terbukti bisa membantu mempercepat penyembuhan luka dan mengurangi bau yang muncul dari luka.

## **4. Menurunkan Berat Badan**

Memang masih banyak penelitian yang perlu dilakukan untuk memastikan manfaat klorofil yang satu ini. Namun, pada sebuah uji coba berskala kecil yang dilakukan pada 20 orang yang memiliki berat badan berlebih, konsumsi klorofil yang dilakukan bersamaan dengan konsumsi karbohidrat tinggi, bisa membuat para responden kenyang lebih cepat. Sehingga, asupan karbohidrat yang masuk ke tubuh pun bisa berkurang. Seiring berjalannya waktu, hal ini akan membuat berat badan turun secara perlahan.

## **5. Meningkatkan Kadar Hemoglobin**

Mengonsumsi klorofil dipercaya dapat membantu menambah jumlah sel darah merah di tubuh. Tak hanya itu, komponen ini rupanya juga dapat meningkatkan kualitas sel darah merah yang diproduksi. Klorofil juga memiliki struktur yang sangat mirip dengan hemoglobin, salah satu komponen utama penyusun sel darah merah. Hal ini membuatnya dinilai efektif untuk mengatasi penyakit yang berhubungan dengan kekurangan hemoglobin, seperti anemia.

## **6. Memaksimalkan Fungsi Hati**

Seolah tak ada habisnya manfaat zat hijau daun ini. Klorofil juga dinilai dapat meningkatkan fungsi hati, sehingga bisa lebih efektif dalam membuang racun dan zat-zat lain yang tidak dibutuhkan oleh tubuh.

### **7. Menyusutkan Tumor dan Kanker di Tubuh**

Mengonsumsi klorofil dipercaya dapat bantu mengecilkan ukuran tumor pada kanker. Namun, penelitian yang dilakukan untuk membuktikan manfaat ini baru dilakukan pada hewan uji dan bukan pada manusia. Sehingga, efektivitasnya bagi manusia belum diketahui secara pasti.

### **8. Mengurangi Nyeri Sendi**

Manfaat klorofil berikutnya adalah sebagai pereda nyeri sendi. Sebab, komponen ini ternyata memiliki sifat anti-inflamasi atau antiperadangan. Seperti yang kita tahu, salah satu penyebab paling umum dari nyeri sendi adalah arthritis atau radang sendi.

### **9. Mencegah Insomnia**

Senyawa zat hijau ini memiliki efek menenangkan bagi orang yang mengonsumsinya. Sehingga tidak heran jika salah satu manfaatnya berhubungan dengan membantu mengurangi gejala gangguan tidur akibat insomnia, gangguan kecemasan, dan kelelahan.

### **10. Meningkatkan Daya Tahan Tubuh**

Terakhir, klorofil juga dinilai dapat membantu meningkatkan daya tahan tubuh. Sebab, klorofil bisa membuat lingkungan sekitarnya menjadi basa dan bakteri anaerob yang bisa menyebabkan penyakit, tidak bisa bertahan di lingkungan yang basa. Selain itu, zat hijau daun ini juga disebut memiliki komponen yang membuatnya bersifat antimikroba.

### **3. Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor*- varietas *Blitum rubrum*)**

Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) merupakan famili Amaranthaceae yang memiliki kandungan vitamin, niacin, mineral (kalsium, mangan, fosfor dan zat besi), serat, karotenoid, klorofil, alkaloid, flavonoid, saponin pada daun serta polifenol pada batang. (Pradana.,dkk 2017).

Tanaman bayam merah memiliki ciri berdaun tunggal, ujungnya meruncing, lunak, dan lebar. Batangnya lunak dan berwarna putih kemerah-merahan. Bunga bayam merah ukurannya kecil mungil dari ketiak daun dan ujung batang pada rangkaian tandan. Buahnya tidak berdaging, tetapi bijinya banyak, sangat kecil, bulat, dan mudah pecah. Tanaman ini memiliki akar tunggang dan berakar samping. Akar sampingnya kuat dan agak dalam. Tanaman ini berbentuk perdu atau semak.

Bayam merah memiliki banyak manfaat karena mengandung vitamin A dan C, sedikit vitamin B, kalsium, fosfor, dan besi (Sunarjono, 2014). Bayam merah mengandung senyawa fenolik dari berbagai macam metabolit sekunder. Senyawa fenolik memiliki satu cincin aromatik (C6) dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Flavonoid adalah senyawa fenolik yang banyak terdapat di bayam merah. Flavonoid memiliki sifat antioksidan karena terdapat kecenderungan yang kuat dalam mereduksi logam, serta memiliki kemampuan mengkelat karena adanya nukleofilik tinggi dari cincin aromatik (Michalak, 2006).

Menurut klasifikasi dalam tata nama (sistematika) tanaman bayam merah dikelompokkan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobionta  
Super Divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Sub Kelas : Hamamelidae  
Ordo : Caryophyllales  
Famili : Amaranthaceae  
Genus : Amaranthus  
Spesies : Amaranthus tricolor L



Gambar 17. Daun Bayam Merah

#### **Manfaat Daun Bayam Merah :**

- **Lancarkan pencernaan**

Bayam merah kaya akan serat yang mampu melancarkan pencernaan. Serat membantu mengatur pergerakan usus dengan membersihkan usus besar. Bayam merah membantu sembelit, mencegah kanker usus besar, diabetes dan kolesterol.

- **Atasi disentri**

Batang bayam merah terbukti bermanfaat dalam mengobati disentri. Serat larut dalam sayuran ini membantu menyerap air dan membersihkan saluran pencernaan. Antosianin dalam bayam merah membantu menghilangkan bakteri penyebab disentri.

- **Cegah kanker**

Bayam merah mengandung asam amino esensial, zat besi, magnesium, fosfor, Vitamin E, potasium dan Vitamin C. Sayuran ini juga kaya akan antosianin yang bermanfaat sebagai antioksidan pencegah kanker. Nutrisi dalam bayam merah ini membantu memerangi radikal bebas dalam tubuh. Mengonsumsi bayam merah secara teratur dapat membantu mencegah kanker.

- **Bantu penurunan berat badan**

Bayam merah mengandung protein yang membantu mengurangi kadar insulin dalam darah. Konsumsi bayam merah juga membantu melepaskan hormon yang membantu mengurangi rasa lapar. Semua manfaat ini berperan dalam penurunan berat badan. Selain itu, bayam juga rendah kalori yang dapat mendukung manajemen berat badan yang baik.

- **Atasi Anemia**

Sama seperti bayam hijau, bayam merah juga merupakan sumber zat besi yang baik. Kandungan ini bermanfaat untuk perkembangan aliran darah. Konsumsi bayam merah secara teratur dapat meningkatkan kadar hemoglobin dan memurnikan darah. Efek ini bisa mencegah anemia secara alami. Bayam merah juga kaya akan air yang dapat mengatasi lelah yang disebabkan oleh anemia.

- **Sehatkan ginjal**

Serat yang tinggi pada bayam merah juga dapat menyehatkan ginjal. Untuk meningkatkan fungsi ginjal dan membersihkan ginjal, bayam ini dapat dikonsumsi bersama dengan batangnya. Manfaat ini juga baik untuk wanita yang baru saja melahirkan dan ingin membersihkan organ dengan baik.

- **Tingkatkan kekebalan**

Bayam merah juga dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Asam amino, vitamin E, vitamin K, zat besi, magnesium, fosfor, dan kalium di dalam bayam merah sangat berpengaruh pada kekebalan tubuh. Kekebalan tubuh yang kuat akan melindungi tubuh dari infeksi bakteri atau virus.

- **Kuatkan tulang**

Bayam merah merupakan sumber vitamin K yang baik untuk tulang. Vitamin K adalah vitamin yang membantu kalsium mengikat tulang. Bayam merah juga kaya akan vitamin C yang sangat penting untuk pembentukan kolagen, fondasi yang menjadi dasar mineralisasi tulang. Bayam juga mampu mencegah terjadinya osteoporosis terutama bagi mereka yang sudah lanjut usia.

- **Kontrol gula darah**

Bayam merah juga mengandung vitamin B3 yang membantu mengendalikan kadar insulin dalam darah. Serat pada bayam merah juga membantu mengontrol gula darah. Pada penderita diabetes, serat - khususnya serat larut - dapat memperlambat penyerapan gula dan membantu menstabilkan kadar gula darah.

- **Atasi kolesterol tinggi**

Serat dalam bayam merah juga membantu menurunkan kadar kolesterol total darah dengan menurunkan kadar kolesterol jahat. Tokotrienol dalam vitamin E mengurangi kadar kolesterol jahat, sehingga membantu tubuh menjaga keseimbangan kadar kolesterol.

- **Baik untuk ibu hamil**

Mengonsumsi bayam merah tidak hanya meningkatkan kesehatan ibu, tetapi juga janin. Vitamin dan mineral yang terdapat pada bayam merah sangat penting bagi kehamilan. Konsumsi bayam dua kali seminggu selama kehamilan dapat mengurangi risiko anemia yang disebabkan oleh kekurangan zat besi. Ini juga membantu perkembangan otak janin dan kelancaran persalinan. Konsumsi bayam selama menyusui juga membantu meningkatkan kualitas ASI.

- **Sehatkan mata**

Bayam merah mengandung vitamin A, C, dan E yang berguna untuk kesehatan mata. Vitamin A memainkan peran penting dalam penglihatan dengan mempertajam kornea. Vitamin E adalah antioksidan kuat yang membantu melindungi sel-sel mata dari kerusakan oleh radikal bebas. Sementara vitamin C membantu dalam produksi kolagen yang membantu memperkuat kapiler, termasuk yang memberi nutrisi ke retina, dan mencegah katarak.

### **C. ALAT DAN BAHAN**

Alat yang digunakan :

- Kaca arloji
- Spatula
- Pengaduk gelas
- Neraca analitik
- Plastik / daun Pembungkus
- Kompor
- Hot plate
- Gelas kimia 1,5 Liter
- Saringan

Bahan yang digunakan :

- Biji Kedelai putih masing-masing 100 gram untuk tiap pembuatan tempe warna
- Bibit tempe (laru) 0,3 – 0,5 gram
- Ekstrak Pewarna, Bunga telang , klorofil , daun bayam merah
- Air bersih secukupnya

### **D. PROSEDUR PERCOBAAN**

#### **1. Langkah Kerja Pembuatan Tempe Warna dari Bunga Telang**

- a. Pilihlah kacang kedelai yang berkualitas, lalu dibersihkan dan dicuci dengan air yang bersih.
- b. Setelah itu rebus kacang kedelai selama 30 menit, setelah direbus direndam selama 24 jam.
- c. Kemudian buang kulit ari kacang kedelai, lalu dicuci bersih lagi dan direbus / dikukus lagi dengan air baru selama 40 – 90 menit untuk menghilangkan kotoran dan mikroba pengganggu yang ada.
- d. Kemudian rebusan kacang kedelai ditiriskan pada tampah, lalu didinginkan sambil diaduk dan diratakan
- e. Siapkan bahan pewarna yang akan digunakan, yaitu menggunakan pewarna dari bunga telang sebanyak 0,5gr lalu larutkan dalam air sebanyak

500ml kemudian panaskan di atas kompor sampai larut. Tetapi , kita hanya memerlukan 100ml untuk setiap pewarnanya.

- f. Setelah larutan pewarna larut saringlah dan pisahkan air rebusan bunga telang tadi dari ampasnya.
- g. Kemudian letakkan larutan diatas kompor masukan kacang kedelai yang telah ditiriskan ke dalam panci yang berisi rebusan air bunga telang tadi lalu panaskan sampai bahan pewarna sedikit keruh dan sudah mulai meresap pada kacang kedelai.
- h. Tiriskan kacang kedelai diatas tampah lalu dinginkan dan keringkan sampai benar-benar kering.
- i. Setelah rebusan kedelai dingin lalu diratakan, taburkan laru tempe secara merata dengan alat pengaduk
- j. Kedelai yang sudah dicampur laru dibungkus dengan plastik ziplock, lalu tusuk – tusuk plastik dengan jarum dan disimpan (di fermentasi) pada tempat / rak yang aman
- k. Fermentasi biji kedelai menjadi tempe memerlukan waktu sekitar 20 – 30 jam (2 – 3 hari),
- l. Produk tempe kedelai sudah jadi dan tampak adanya warna pada permukaan tempe.

## **2. Langkah Kerja Pembuatan Tempe Warna dari Ekstrak Daun Bayam Merah**

- a. Pilihlah kacang kedelai yang berkualitas , lalu dibersihkan dan dicuci dengan air yang bersih.
- b. Setelah itu rebus kacang kedelai selama 30 menit , setelah direbus direndam selama 24 jam.
- c. Kemudian buang kulit ari kacang kedelai , lalu dicuci bersih lagi dan direbus atau dikukus lagi dengan air baru selama 40 – 90 menit untuk menghilangkan kotoran dan mikroba pengganggu yang ada.
- d. Kemudian rebusan kacang kedelai ditiriskan pada tampah , lalu didinginkan sambil diaduk dan diratakan
- e. Siapkan bahan pewarna yang akan digunakan , yaitu menggunakan pewarna dari Ekstrak Daun Bayam Merah sebanyak 0,5gr lalu larutkan



dalam air sebanyak 500ml kemudian panaskan di atas kompor sampai larut. Tetapi , yang kita gunakan hanya 100gr saja pada setiap pewarnaanya.

- f. Setelah larutan pewarna larut saringlah dan pisahkan air rebusan daun bayam tadi dari ampasnya.
- g. Kemudian letakkan larutan diatas kompor masukan kacang kedelai yang telah ditiriskan ke dalam panci yang berisi rebusan air daun bayam tadi lalu panaskan sampai bahan pewarna sedikit keruh dan sudah mulai meresap pada kacang kedelai.
- h. Tiriskan kacang kedelai diatas tampah lalu dinginkan dan keringkan sampai benar-benar kering.
- i. Setelah rebusan kedelai dingin lalu diratakan, taburkan laru tempe secara merata dengan alat pengaduk
- j. Kedelai yang sudah dicampur laru dibungkus dengan plastik ziplock , lalu tusuk – tusuk plastik dengan jarum dan disimpan (di fermentasi) pada tempat / rak yang aman
- k. Fermentasi biji kedelai menjadi tempe memerlukan waktu sekitar 20 – 30 jam (2 – 3 hari),
- l. Produk tempe kedelai sudah jadi dan tampak adanya warna pada permukaan tempe.

### **3. Langkah Kerja Pembuatan Tempe Warna Dari Klorofil.**

- a. Pilihlah kedelai berkualitas baik , lalu dibersihkan dan dicuci dengan air bersih
- b. Setelah itu rebus kedelai selama  $\pm 30$  menit setelah dicuci bersih , lalu direndam dalam air perebus selama 24 jam , atau selama satu malam.
- c. Setelah proses perendaman 24 jam , atau satu malam , buanglah kulit ari kedelai serta kotoran yang ada di dalamnya , lalu dicuci lagi hingga bersih.
- d. Selanjutnya rebus atau kukus kembali dengan air baru dan bersih serta ditambahkan Klorofil pada saat perebusan selama  $\pm 40$  menit atau sampai kedelai lembut dan warna telah menyerap pada kacang kedelai tadi.
- e. Apabila kacang kedelai tadi sudah lembut dan warna ekstraknya telah

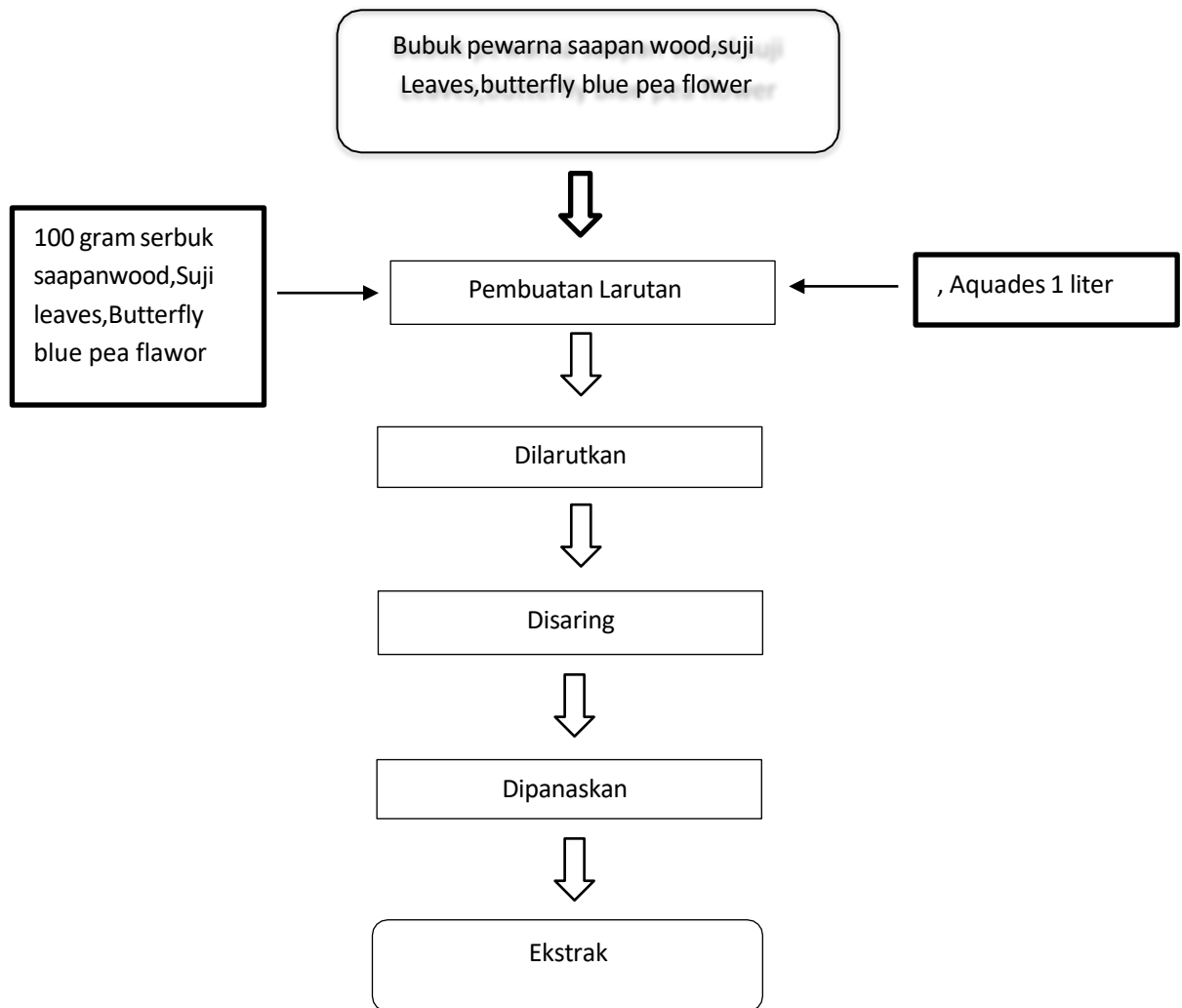
menyerap, tiriskan kacang kedelai tadi ke sebuah tempat tirisan agar air benar-benar tidak ada pada kacang kedelai tadi.

- f. Setelah rebusan kedelai dingin dan tidak ada lagi air yang tersisa , taburkan laru atau ragi tempe secara merata dan aduklah hingga merata dan tidak ada gumpalan yang tersisa.
- g. Kedelai yang sudah dicampur laru dibungkus dengan plastic lalu ujung plastic di ikat.
- h. Selanjutnya tusuk-tusuklah plastic tadi dengan menggunakan tusuk gigi atau tusuk sate atau yang lainnya dan disimpan (di fermentasi) pada tempat / rak yang aman.
- i. Fermentasi biji kedelai menjadi tempe memerlukan waktu sekitar 20-30 jam (2-3 hari)
- j. Produk kedelai sudah jadi.

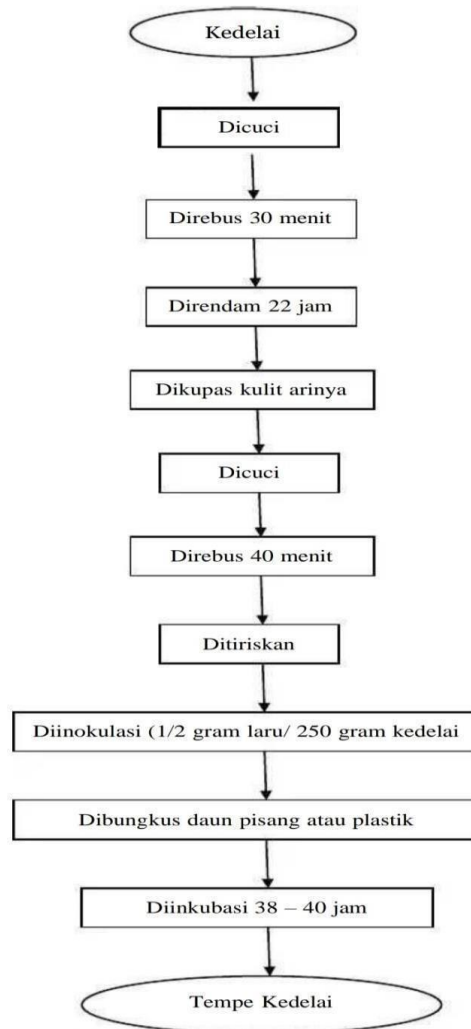
#### **4. PENGABUNGAN SEMUA WARNA**

- a. Setelah semua warna telah jadi , dan telah diberi ragi tempe langkah berikutnya adalah pengemasan
- b. Susun kombinasi warna sesuai keinginan
- c. Jika dirasa kemasan telah cukup terisi , ikat kemasan plastic tersebut
- d. Jika proses pengemasan telah dilakukan , lalu diamkan tempe selama 2 malam atau sampai menjadi tempe yang sempurna.

### SKEMA PROSES EKSTRAK PEWARNA



### SKEMA PROSES PEMBUATAN TEMPE



<b>TBP</b>	<b>PEMBUATAN MINYAK KELAPA SECARA FERMENTASI (VCO)</b>	
------------	--	---

### A. TUJUAN PERCOBAAN

- Mahasiswa dapat mengetahui proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi.

### B. DASAR TEORI

Minyak kelapa dapat dibuat dengan berbagai cara, diantaranya cara tradisional melalui pemasakan terhadap santan kelapa tetapi cara tersebut kurang efisien untuk industri rumah tangga, disebabkan beberapa faktor seperti rendemen minyak yang relatif rendah dan kebutuhan bahan bakar yang cukup besar dengan biaya yang cukup mahal. Untuk mengatasi kendala tersebut, maka cara fermentasi merupakan hal yang paling cocok untuk industri kecil atau home industry, karena cara fermentasi merupakan prosedur yang hemat energi.

Minyak kelapa muni (*Virgin Coconut Oil/ VCO*) adalah modifikasi proses pembuatan minyak kelapa sehingga menghasilkan produk dengan kadar air dan kadar asam lemak bebas yang rendah, berwarna bening, berbau harum, serta mempunyai daya simpan yang lama yaitu lebih dari 12 bulan.

#### 1. Kelapa



Gambar 18. Kelapa

Kelapa (coconut) dikenal dengan berbagai sebutan seperti *Nux indica*, al djanz al kindi, ganz-ganz, nargil, narle, tenga, temuai dan pohon kehidupan (Suhardiyono, 1993).

Pada dasarnya dikenal dua varietas kelapa, yaitu varietas Nana yang umum disebut kelapa genjah dan varietas Typica yang umum disebut kelapa dalam. Kelapa genjah berdasarkan sifatnya dibagi 5 yaitu : kelapa gading, kelapa raja, kelapa puyuh, kelapa raja malabr, kelapa hias. Kelapa dalam berdasarkan sifatnya dibagi 6 yaitu : kelapa hijau, kelapa merah, kelapa manis, kelapa bali, kelapa kopyor, kelapa lilin (Wahyuni, Mita, Ir., 2000).

Kelapa merupakan tumbuhan asli daerah tropis, yakni daerah yang terletak di sepanjang garis khatulistiwa. Ciri umum pohon kelapa adalah memiliki akar serabut dengan biji tidak berkeping (monokotil). Secara lengkap klasifikasi kelapa adalah sebagai berikut (Steenis, 1987):

Kingdom : *Plantae*  
Divisio : *Spermatophyta*  
Sub-Divisio : *Angiospermae*  
Classis : *Monocotyledonae*  
Order : *Palmales*  
Familia : *Palmae*  
Genus : *Cocos*  
Species : *Cocos nucifera L.*



Gambar 19. Pohon Kelapa

Buah kelapa terdiri dari bagian-bagian seperti:

1. Epicarp (Kulit Luar)

Yaitu kulit bagian luar yang berwarna hijau, kuning, atau jingga permukaannya licin, agak keras dan tebalnya 0,14 mm.

2. Mesocarp (Sabut)

Yaitu kulit bagian tengah yang disebut serabut terdiri dari bagian berserat tebalnya 3-5 mm.

3. Endocarp (Tempurung)

Yaitu bagian tempurung yang keras sekali tebalnya 3 - 5 mm, bagian dalam melekat pada kulit luar biji.

4. Testa ( Kulit Daging Buah )

Yaitu bagian dari warna kuning sampai coklat.

5. Endosperm (Daging Buah )

Yaitu bagian yang berwarna putih dan lunak, sering disebut daging kelapa yang tebalnya 8 - 10 mm.

6. Air Kelapa

Yaitu bagian yang berasa manis, mengandung mineral 4%, gula 2%, dan air.

Sumber : Palungkun, Rony (1993)

- Komposisi Daging Kelapa Pada Berbagai Tingkat Umur

No	Komposisi per 100 gram bahan	Satuan	Umur buah		
			Muda	Setengah tua	Tua
1.	Kalori	Kal	68,0	180,0	359,0
2.	Protein	G	1,0	4,0	3,4
3.	Lemak	G	0,9	15,0	34,7
4.	Karbohidrat	G	14,0	10,0	14,0
5.	Kalsium	Mg	7,0	8,0	21,0
6.	Fosfor	Mg	30,0	55,0	98,0
7.	Besi	Mg	1,0	1,3	2,0
8.	Nilai Vitamin A	SI	0,0	10,0	0,0
9.	Vitamin B1	Mg	0,06	0,05	0,1
10.	Vitamin C	Mg	4,0	4,0	2,0
11.	Air	G	83,0	70,0	46,9

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (1981)

- Manfaat Kelapa Bagi Kesehatan Tubuh

Dari berbagai nutrisi yang terkandung dalam kelapa, kelapa memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, yaitu sebagai berikut:

- 1) Memenuhi kebutuhan nutrisi tubuh
- 2) Menjaga kesehatan jantung

- 3) Kaya antioksidan untuk menangkal radikal bebas
- 4) Baik untuk diet dan membantu menurunkan berat badan
- 5) Menjaga kesehatan sistem Pencernaan
- 6) Membantu menjaga kadar gula darah
- 7) Membantu pembentukan produksi ASI
- 8) Membantu mengatasi
- 9) Menjaga keseholon kulit
- 10) Menjaga kesehatan mulut, dengan:
  - Menangkal beberapa racun
  - Melindungi dari penyakit
  - Meringankan peradangan
  - Membunuh bakteri (Orami.co.id)

## 2. Santan Kelapa



Gambar 20. Santan Kelapa

Kelapa (*Cocos nucifera*) merupakan komoditas yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Buah kelapa dapat dibuat menjadi berbagai macam olahan pangan, salah satunya adalah santan kelapa. Santan adalah emulsi minyak dalam air yang berwarna putih susu yang diperoleh dengan cara pemerasan parutan daging kelapa dengan atau tanpa penambahan air. Santan kental merupakan hasil olahan santan kelapa yang telah diberi emulsifier, sehingga emulsinya lebih stabil. Namun, santan kental mudah rusak dan berbau tengik, karena itu perlu diupayakan produk santan kental siap pakai yang mempunyai daya simpan cukup. Untuk memperpanjang masa simpan santan kental diperlukan perlakuan pemanasan (Ramdhoni et al., 2009).

Santan merupakan bentuk emulsi minyak dalam air dengan protein sebagai



stabilisator emulsi. Air sebagai pendispersi dan minyak sebagai fase terdispersi. Di dalam sistem emulsi minyak air, protein membungkus butir-butir minyak dengan suatu lapisan tipis sehingga butir-butir tersebut tidak dapat bergabung menjadi satu fase kontinyu. Butir-butir minyak dapat bergabung menjadi satu fase kontinyu jika sistem emulsi di pecah dengan jalan merusak protein sebagai pembungkus butir-butir minyak.

Pemarutan merupakan tahap pendahuluan dalam memperoleh santan. Pemarutan bertujuan untuk menghancurkan daging buah dan merusak jaringan yang mengandung santan sehingga santan mudah keluar dari jaringan tersebut. Pemerasan dengan menggunakan tangan untuk memberikan tekanan pada hasil parutan dan memaksa santan keluar dari jaringan. Mengekstraksi santan dapat dilakukan pemerasan dengan tangan dan selanjutnya dilakukan penyaringan. Dalam industri makanan, peran santan sangat penting baik sebagai sumber gizi, penambahan aroma, cita rasa , flavour dan perbaikan tekstur bahan pangan hasil olahan (Khairulanam. Files. Wordpress. Com)

- Kandungan Nutrisi Santan dan Air Kelapa

Berikut ini nutrisi yang terkandung dalam 100 gr air kelapa

Kandungan	Air kelapa	Santan
Kalori	17 kal	324 kal
Protein	0.2 gram	4,2 gram
Lemak	0,1 gram	34,3 gram
Karbohidrat	3,8 gram	5,6 gram
Kalsium	15 mg	14 mg
Fosfor	8 mg	45 mg
Besi	0,2 mg	1,9 mg
Natrium	1 mg	18 mg
Kalium	149 mg	514,1 mg
Tembaga	0,04 mg	0,37 mg
Seng	0,1 mg	0,9 mg
Vitamin C	1 mg	2 mg

Sumber: Data komposisi pangan Indonesia, dari kementerian kesehatan

Selain deretan kandungan di atas, santan dan air kelapa juga mengandung folat. Kandungan asam folat dalam satu gelas sebesar 10% dari kebutuhan harian, sedangkan dalam air kelapa hanya mengandung 2% folat dari kebutuhan harian. Dari nutrisi yang dikandung santan tersebut, santan memiliki manfaat sebagai berikut:

- a. Mengurangi peradangan
- b. Mengurangi ukuran tukak lambung
- c. Melawan virus dan bakteri
- d. Meningkatkan sistem kekebalan tubuh

## 2. Minyak dan Lemak

Lemak dan minyak terdiri dari trigliserida campuran, yang merupakan ester dari gliserol dan asam lemak rantai panjang. Minyak nabati terdapat dalam buah-buahan, kacang-kacangan, biji-bijian, akar tanaman, dan sayur-sayuran. Dalam jaringan hewan lemak terdapat di seluruh badan, tetapi jumlah terbanyak terdapat dalam jaringan adipose dan sumsum tulang.

Trigliserida dapat berwujud padat atau cair, hal ini tergantung komposisi asam lemak yang menyusunnya, sebagian besar minyak nabati berbentuk cair karena mengandung sejumlah asam lemak tidak jenuh, yaitu asam oleat, linoleat, atau asam linolenat dengan titik cair yang rendah. Lemak hewani umumnya berbentuk padat pada suhu kamar karena banyak mengandung asam lemak jenuh, misalnya asam palmitat, dan stearat yang mempunyai titik cair lebih tinggi (Ketaren, 2008)

Pengujian minyak atau lemak

### 1) Bilangan Penyabunan

Bilangan penyabunan adalah jumlah miligram KOH yang diperlukan untuk menyabunkan satu gram minyak atau lemak. Tujuan dari analisa bilangan penyabunan adalah untuk mengetahui jenis asam lemak (Ketaren, 1986).

### 2) Bilangan Asam

Bilangan asam adalah jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam-asam lemak bebas dari satu gram minyak atau lemak. Tujuan dari analisa bilangan asam adalah untuk mengukur jumlah asam lemak bebas yang terdapat dalam minyak atau lemak (Ketaren, 1986).

### 3. Minyak Kelapa

Produk kelapa yang paling berharga adalah minyak kelapa. Minyak kelapa dapat diperoleh dari daging buah kelapa segar atau dari kopra. Proses untuk membuat minyak kelapa dari daging buah kelapa segar dikenal dengan nama proses basah (wet process) yang biasanya menghasilkan produk berupa Virgin Coconut Oil (VCO), karena pada proses ini ditambahkan air untuk mengekstraksi minyak. Sedangkan pembuatan minyak kelapa dengan bahan baku kopra dikenal dengan proses kering (dry process) yang produknya berupa minyak kelapa biasa atau yang lebih dikenal sebagai minyak goreng kelapa.

Minyak kelapa berdasarkan kandungan asam lemak digolongkan ke dalam minyak asam laurat, karena kandungan asam lauratnya paling besar jika dibandingkan dengan asam lemak lainnya. Berdasarkan tingkat ketidakjenuhannya yang dinyatakan dengan bilangan Iod (iodine value), maka minyak kelapa dapat dimasukkan ke dalam golongan non drying oils, karena bilangan iod minyak tersebut berkisar antara 7,5-10,5.

#### Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa

Asam Lemak	Rumus Kimia	Jumlah (%)
<i>Asam Lemak Jenuh :</i>		
Asam Kaproat	$C_5H_{11}COOH$	0,0 – 0,8
Asam Kaprilat	$C_7H_{17}COOH$	5,5 – 9,5
Asam Kaprat	$C_9H_{19}COOH$	4,5 – 9,5
Asam Laurat	$C_{11}H_{23}COOH$	44,0 – 52,0
Asam Miristat	$C_{13}H_{27}COOH$	13,0 – 19,0
Asam Palmitat	$C_{15}H_{31}COOH$	7,5 – 10,5
Asam Stearat	$C_{17}H_{35}COOH$	1,0 – 3,0
Asam Arachidat	$C_{19}H_{39}COOH$	0,0 – 0,4
<i>Asam Lemak Tidak Jenuh :</i>		
Asam Palmitoleat	$C_{15}H_{29}COOH$	0,0 – 1,3
Asam Oleat	$C_{17}H_{33}COOH$	5,0 – 8,0
Asam Linoleat	$C_{17}H_{31}COOH$	1,5 – 2,5

Sumber: Thieme, J. G. (1968) dikutip dari Ketaren, 1986.

#### 4. Virgin Coconut Oil (Minyak Kelapa Murni)

Minyak kelapa murni atau bahasa ilmiahnya virgin coconut oil adalah minyak perawan yang berasal dari sari pati kelapa, diproses secara higienis tanpa sentuhan api secara langsung dan bahan kimia tambahan.



Gambar 21. Virgin Coconut Oil (Minyak Kelapa Murni)

Dilihat dari warnanya, minyak kelapa murni jauh lebih bening seperti air mineral. Selain itu kadar air dan asam lemak bebasnya kecil, serta kandungan asam lauratnya tinggi. Minyak kelapa murni mengandung anti oksidan bebas sehingga mampu menjaga kekebalan tubuh.

Proses pembuatan minyak kelapa murni ini sama sekali tidak menggunakan zat kimia organik dan pelarut minyak. Dari proses seperti ini, rasa minyak yang dihasilkan lembut dengan bau khas kelapa yang unik. Jika minyak membeku, warna minyak kelapa ini putih murni. Sedangkan jika cair, VCO tidak berwarna (bening). Minyak kelapa murni tidak mudah tengik karena kandungan asam lemak jenuhnya tinggi sehingga proses oksidasi tidak mudah terjadi. Namun, bila kualitas VCO rendah, proses ketengikan akan berjalan lebih awal. Hal ini disebabkan oleh pengaruh oksigen, keberadaan air, dan mikroba yang akan mengurangi kandungan asam lemak yang berada dalam VCO menjadi komponen lain.

Secara fisik, VCO harus berwarna jernih. Hal ini menandakan bahwa di dalamnya tidak tercampur oleh bahan dan kotoran lain. Apabila di dalamnya masih terdapat kandungan air, biasanya akan ada gumpalan berwarna putih. Keberadaan air ini akan mempercepat proses ketengikan. Selain itu, gumpalan tersebut kemungkinan juga merupakan komponen blondo yang tidak tersaring semuanya. Kontaminasi seperti ini secara langsung akan berpengaruh terhadap kualitas VCO. Kandungan komponen minyak kelapa murni antara lain seperti yang dicantumkan

## Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Murni

Asam Lemak	Rumus Kimia	Jumlah ( % )
<i>Asam lemak jenuh</i>		
Asam Laurat	$C_{11}H_{23}COOH$	43,0 – 53,0
Asam Miristat	$C_{13}H_{27}COOH$	16,0 – 21,0
Asam Kaprat	$C_9H_{19}COOH$	4,5 – 8,0
Asam Palmitat	$C_{15}H_{31}COOH$	7,5 – 10,0
Asam Kaprilat	$C_7H_{15}COOH$	5,0 - 10,0
Asam Kaproat	$C_5H_{11}COOH$	0,4 – 0,6
<i>Asam lemak tidak jenuh</i>		
Asam Oleat	$C_{16}H_{32}COOH$	1,0 – 2,5
Asam Palmitoleat	$C_{14}H_{28}COOH$	2,0 – 4,0

Sumber: Setiaji, B., dan Surip Prayoga, 2006

- Manfaat Virgin Coconut Oil (VCO)

Minyak kelapa murni (VCO) mempunyai banyak manfaat terutama dalam bidang kesehatan (anonim, 2009) , diantaranya :

1. Merupakan antibakteri ,antivirus , antijamur dan antiprotozoa alamiah Di dalam tubuh, asam laurat akan diubah menjadi monolaurin dan asam kaprat menjadi monokaprin, keduanya bersifat anti bakteri, antivirus, antijamur dan antiprotozoa
2. Menjaga kesehatan jantung dan pembuluh darah  
Karena VCO bersifat antibakteri/virus maka VCO dapat membantu mencegah pembentukan plak dengan cara membunuh mikroorganisme pencetus timbulnya plak.
3. Membantu mencegah penyakit osteoporosis  
Asam lemak dalam VCO berfungsi sebagai antioksidan sehingga akan melindungi tulang dari radikal bebas merusak tulang.

- Pembuatan VCO menggunakan bawang putih (enzimatis)

Adapun berikut ini merupakan klasifikasi bawang putih

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobionta  
Superdivisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Liliopsida  
Subkelas : Liliidae  
Ordo : Liliales  
Famili : Liliaceae  
Genus : Allium  
Spesies : Allium sativum L (Agrotek.id)



Gambar 22. Bawan Putih

Dengan rusaknya protein maka ikatan lipoprotein dalam santan juga akan terputus dengan sendirinya. Kemudian, minyak yang diikat oleh ikatan tersebut akan keluar dan mengumpul menjadi satu. Karena minyak memiliki masa (berat) jenis lebih rendah dibandingkan dengan air, maka posisinya kemudian berada paling atas, disusul dengan protein, dan terakhir (bawah) yaitu air.

Pembuatan VCO secara enzimatis memiliki kelebihan dan kekurangan :

1. Kelebihan :
  - a. VCO berwarna bening, seperti kristal karena memang tidak mengalami proses pemanasan.
  - b. Kandungan asam lemak dan antioksidan di dalam VCO tidak banyak berubah sehingga khasiatnya tetap tinggi.

- c. Tidak mudah tengik karena komposisi asam lemaknya tidak banyak berubah.
- d. Tidak memutuhkan biaya tambahan yang terlalu mahal karena umumnya daun pepaya atau nanas dijual dengan harga murah.
- e. Rendemen yang dihasilkan cukup tinggi, yaitu dari 10 butir kelapa akan diperoleh sekitar 1.100 ml VCO.

2. Kekurangan :

Memutuhkan waktu yang sangat lama dalam proses denaturasi protein untuk memisahkan minyak dari ikatan lipoprotein, yaitu sekitar 20 jam.

▪ Pembuatan minyak kelapa murni dengan pengasaman

Pengasaman merupakan salah satu upaya pembuatan VCO dengan cara membuat suasana emulsi (santan) dalam keadaan asam. Asam memiliki kemampuan untuk memutus ikatan lemak-protein dengan cara mengikat senyawa yang berikatan dengan lemak. Namun asam yang dicampurkan kedalam santan hanya bisa bekerja dengan maksimal bila kondisi pH (derajat keasamannya) sesuai. Pada proses pembuatan VCO, pH yang paling optimal yaitu 4,3.

Pengasaman VCO dapat dilakukan dengan penambahan jeruk nipis. Adapun klasifikasi ilmiah jeruk nipis yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Subdivisio : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledonae  
Ordo : Rutales  
Famili : Rutaceae  
Genus : Citrus  
Spesies : Citrus aurantiifolia (Crc. Farmasi. UGM. ac.id)



Gambar 23. Jeruk Nipis

Pembuatan VCO dengan pengasaman memiliki kelebihan dan kekurangan :

1. Kelebihan :

- a. Warna lebih bening dibandingkan dengan VCO yang dibuat secara tradisional.
- b. Kandungan asam lemak dan antioksidannya tidak banyak berubah karena proses hanya memutuskan ikatan protein-lemak saja.
- c. Daya simpan sangat lama, bisa sampai 10 tahun karena selama proses pembuatan tidak terjadi denaturasi komposisi gizinya.
- d. Proses pembuatan tidak membutuhkan tenaga tambahan.
- e. Tidak membutuhkan biaya terlalu mahal karena harga asam cuka sebagai bahan tambahan cukup murah.

2. Kekurangan :

- a. Tidak bisa diformulasikan secara pasti karena untuk mendapatkan pH 4,3 banyak faktor yang berpengaruh sehingga harus dilakukan pencampuran (santan dan asam) berulang-ulang.
- b. pH campuran santan dan asam harus pas, yaitu 4,3. Apabila pH-nya kurang atau lebih kemungkinan kegagalan dalam pembuatan VCO sangat tinggi.
- c. Waktu yang dibutuhkan untuk proses pembuatan VCO cukup lama, sekitar 10 jam.

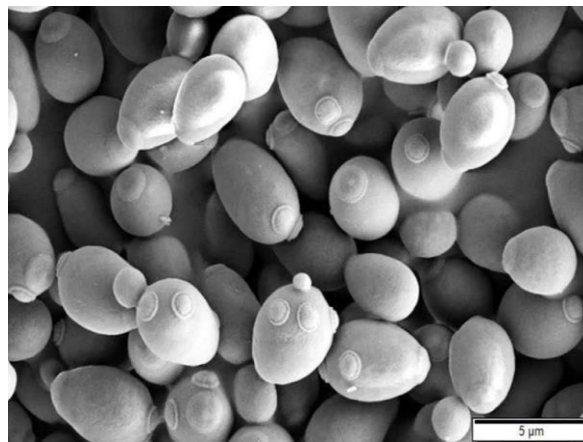


- Pembuatan VCO menggunakan ragi (secara fermentasi)

Metode ini didasarkan pada penemuan bioteknologi sederhana, yaitu penggunaan *Saccharomyces* sp untuk memisahkan minyak dari karbohidrat dan protein yang terdapat dalam sel-sel endosperm biji kelapa.

Berikut ini klasifikasi ilmiah *Saccharomyces cerevisiae* Menurut Agustining (2012)

Kingdom : Fungi  
Filum : Ascomycota  
Subfilum : Saccharomycotina  
Kelas : Saccharomycetes  
Ordo : Saccharomycetales  
Famili : Saccharomycetaceae  
Genus : *Saccharomyces*  
Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*



Gambar 24. *Saccharomyces cerevisiae*

Dalam pembuatan VCO secara fermentasi ini sebenarnya yang diperlukan adalah enzim-enzim yang dihasilkan dari jamur *Saccharomyces* SP. enzim yang telah diproduksi oleh jamur ini dilepaskan ke lingkungan sekitar jamur untuk menghancurkan substrat tempat tumbuhnya senyawa-senyawa organik dapat larut. Substrat yang dihancurkan ini pada umumnya berupa senyawa karbohidrat di dalam endosperm biji kelapa. Minyak umumnya terdapat berikatan dengan karbohidrat dan protein. Dengan dihancurkan karbohidrat oleh enzim yang dihasilkan *Saccharomyces* sp, maka minyak maupun protein masing-masing akan terlepas.

Minyak akan berada di permukaan sedangkan proteinnya akan mengendap. Protein yang mengendap inilah yang disebut orang sunda sebagai gelondo.

Untuk meningkatkan rendemen minyak dapat dilakukan modifikasi pada proses pembuatannya yaitu dengan menggunakan ragi, baik roti maupun ragi tape. Ragi dapat memecah karbohidrat sehingga menghasilkan asam. Asam yang terbentuk dapat mengkoagulasi protein santan. Ragi juga mengandung protein yang dapat menghidrolisis protein yang menyelubungi globula pada emulsi santan, sehingga VCO santan terpisah.

#### Keuntungan Pembuatan VCO dengan Ragi

Pembuatan VCO secara fermentasi memiliki banyak keuntungan dibandingkan dengan cara tradisional. Pada cara tradisional, rendemen yang diperoleh sekitar 15-17%, sedangkan cara fermentasi yang diperoleh sekitar 22- 24%. Selain itu, pembuatan VCO secara fermentasi prosedurnya lebih mudah, dapat menghemat bahan bakar, dan menghasilkan VCO berwarna jernih dengan kualitas memenuhi standar minyak Indonesia. Namun, perlu diperhatikan bahwa keberhasilan pembuatan VCO dengan metode ini sangat dipengaruhi oleh jenis substrat, jenis ragi dan faktor lingkungan yang mempengaruhi kehidupan *Saccharomyces* (rumahmesin.com).

#### ▪ Pembuatan Starter

Cairan bibit (starter) yang mengandung *Saccharomyces Cerevisiae* harus diapkan terlebih dahulu sebelum proses fermentasi minyak kelapa.

### 3. ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan :

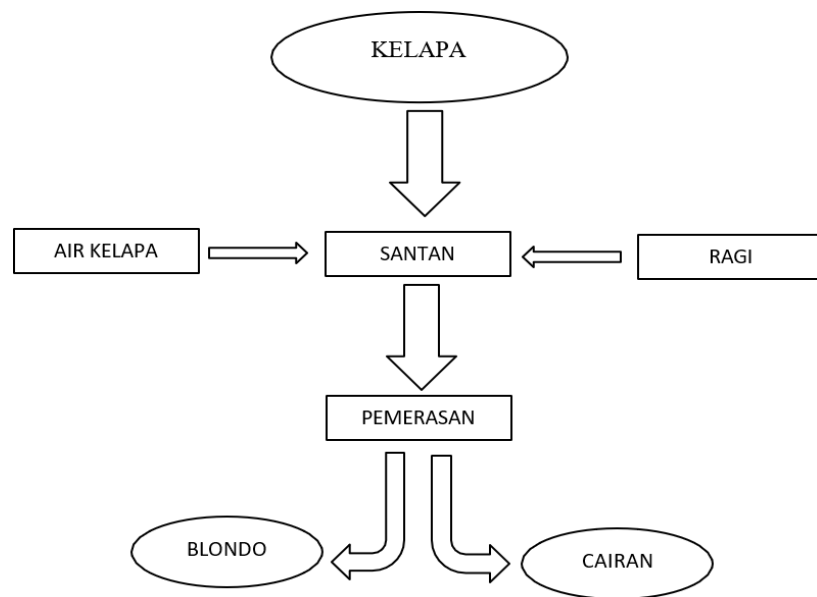
- Gelas kimia
- Gelas ukur
- Corong pemisah
- Statif
- Mortar porselin
- Spatula
- Saringan / kain kasa.

Bahan yang digunakan :

- Kelapa parut
- Air kelapa
- Ragi tape
- Air
- Bawang putih
- Jeruk nipis

#### 4. PROSEDUR PERCOBAAN

- Pembuatan starter
  1. Siapkan alat dan bahan yang digunakan
  2. Sterilisasikan alat dan bahan dengan air panas atau alkohol
  3. Kelapa yang sudah dibuang tempurungnya dan kulit arinya dilubangi dan airnya ditampung
  4. Kelapa dipotong-potong dan dicuci, kemudian diparut
  5. Kelapa parut diberi air hangat atau air dingin, diremas-remas dan disaring sehingga diperoleh air santan
  6. Mencampurkan satu bagian air kelapa dengan sembilan bagian santan dan ditambah ragi, lalu campuran tadi diaduk sampai raginya larut. Campuran kemudian diperam selama satu malam dan akan tumbuh mikroba *Saccharomyces cerevisiae*
  7. Setelah diperam selama satu malam, maka akan terbentuk dua lapisan, lapisan pertama blondo (kental) dan lapisan kedua cairan bibit (encer), cairan bibit inilah yang digunakan untuk fermentasi VCO.



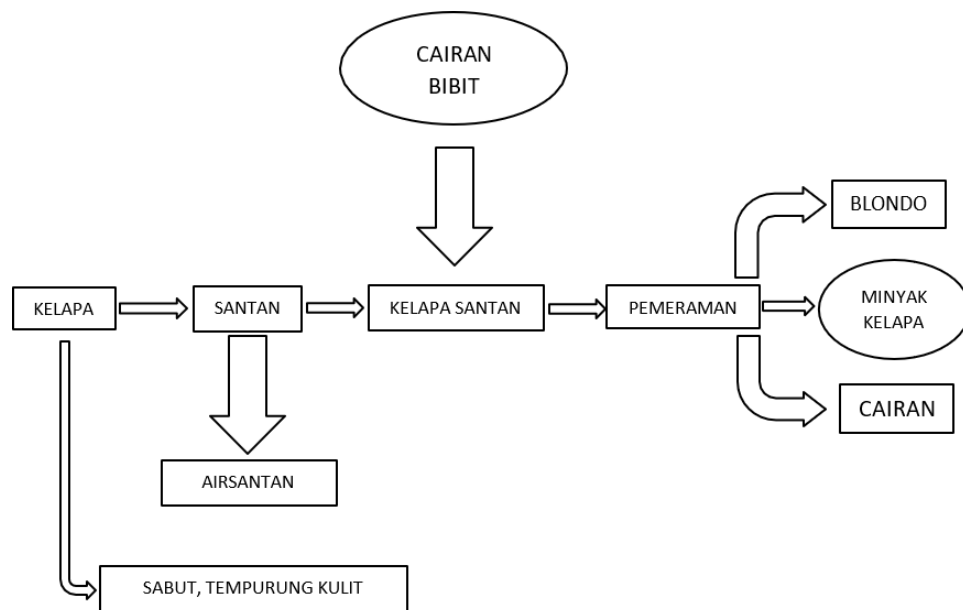
Bagan Pembuatan Cairan Bibit (Starter)

- Proses fermentasi

Pengolahan daging kelapa sama dengan cara membuat sairan bibit, tetapi pada proses fermentasi tidak ditambahkan ragi.

Tahap-tahap fermentasi adalah sebagai berikut :

1. Kelapa dikupas selanjutnya, dipisahkan dari tempurung dan kulit airnya dibunga.
2. Kelapa setelah dipotong-potong kemudian dicuci dan diparut
3. Santan dibiarkan sebentar sampai kelapa terpisah dari air santan
4. Setelah sebentar sampai kelapa santan terpisah, cairan bibit dengan kelapa santan tersebut dengan perbandingan 1:3 dalam corong pisah dan diaduk sampai rata
5. Campuran diperam (diinkubasi) minimum 8 jam dalam suhu kamar dan dalam keadaan terbuka
6. Setelah fermentasi berjalan cairan tiga lapisan yang kemudian dipisahkan dengan cara membuka kran pada corong pisah atau menusuk lapisan plastik pada tutup botol
7. Bagian atas blondo, di tengah minyak, dan bagian bawah adalah cairan.



Bagan proses pembuatan minyak kelapa secara fermentasi

<b>TBP</b>	<b>PEMBUATAN YOGHURT KEDELAI</b>	
------------	----------------------------------	--

### A. TUJUAN PERCOBAAN

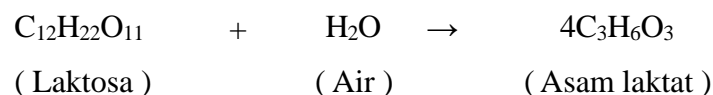
- Mahasiswa memahami prinsip dan dapat membuat produk yogurt susu kedelai menggunakan starter *Lactobacillus casei* yang dapat menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi terhadap susu kedelai.

### B. DASAR TEORI

Yoghurt adalah produk olahan susu secara fermentasi pada kondisi proses tertentu dengan bantuan bakteri penghasil asam laktat. Pada mulanya yoghurt terbuat dari susu sapi, dengan bentuk es krim atau bubur. Yoghurt tidak hanya dapat dibuat dari susu sapi, tetapi juga dari bahan kacang-kacangan seperti kacang kedelai, kacang hijau.

Pada prinsipnya pembuatan yoghurt kedelai ini dengan cara inokulasi susu kedelai dengan starter *Lactobacillus casei* dan diinkubasi pada suhu 38°C dalam alat inkubator selama 4 jara. Bakteri *Lactobacillus casei* ini dapat menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi terhadap susu kedelai.

Substrat utama yang dipecah dalam proses fermentasi adalah karbohidrat. Asam yang pada prosuk susu hasil fermentasi adalah hasil perombakan laktosa oleh bakteri. Proses perombakan laktosa selama proses fermentasi oleh bakteri asam laktat digambarkan sebagai berikut:



Asam laktat yang dihasilkan ini menyebabkan penurunan pH susu atau meningkatkan kadar asam susu.

Istilah yoghurt berasal dari Bahasa Turki, yaitu yoghurt yang artinya susu asam. Yoghurt memiliki beberapa nama lain di berbagai negara, antara lain yaitu Sostej (Mangariah), Kiselaleka (Balkan), Zabady (mesir), Mast (Iran), Roba (irak), Mazum (Armenia), Tiaorti (Yunani), cieddu (Italia), Mezzoradu (sisila), Turho (mongolia).

Yoghurt adalah produk lahan susu secara fermentasi pada kondisi proses tertentu dengan bantuan bakteri penghapus asam laktat. Pada mulanya yoghurt terbuat dari susu sapi, dengan bentuk es krim atau bubur. Yoghurt tidak hanya dapat dibuat dari susu sapi, tetapi juga dari bahan kacang-kacangan seperti kacang kedelai, kacang hijau.



Gambar 25. Yoghurt

Berikut definisi dan pengertian yoghurt dari beberapa sumber buku :

1. Menurut Taufik (2004), yoghurt adalah produk pangan yang berawal dari susu yang difermentasikan menggunakan bakteri tertentu. Biasanya digunakan bakteri *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus*. Kedua bakteri inilah yang akan memfermentasikan laktosa (gula susu) menjadi asam laktat sehingga dihasilkan flavor yoghurt yang khas.
2. Menurut Purwiyanto (2005), yoghurt adalah hasil olahan susu yang diproses melalui proses fermentasi dengan penambahan kultur organisme yang baik, salah satunya yaitu bakteri asam laktat (sebagai starter)
3. Menurut Budiastuti (2012) yoghurt adalah sejenis produk susu terkoagulasi, diperoleh dari fermentasi asam laktat melalui aktivitas *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus*, dimana mikroorganisme dalam produk akhir harus hidup-aktif dan berlimpah.
4. Menurut Samui (2003), yoghurt adalah produk hasil fermentasi susu dengan menggunakan *Streptococcus Thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* sebagai bakteri starternya.

### 1.1 Manfaat Yoghurt

Yoghurt dikategorikan sebagai salah satu makanan yang fungsional, yaitu makanan yang berfungsi untuk mengatasi berbagai penyakit sehingga dapat mendongkakan Kesehatan dan kebugaran tubuh. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa mengkonsumsi yoghurt dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Yoghurt mengandung suatu factor yang dapat menghambat sintesis kolesterol sehingga kolesterol menurun dan mencegah terjadinya penyumbatan pembuluh darah (*Atherosclerosis*) penyebab terjadinya jantung koroner.

Berikut ini adalah beberapa fungsi dan manfaat yoghurt bagi kesehatan tubuh yaitu :

1. Meningkatkan pertumbuhan
2. Mengatur saluran pertumbuhan
3. Antikanker
4. Penghambat pertumbuhan bakteri patogen
5. Memperbaiki Gerakan perut
6. Menurunkan berat badan
7. Yoghurt bermanfaat terutama bagi penderita *Lactose Intolerance*

### 1.2 Kandungan Nutrisi Yoghurt

Yoghurt merupakan salah satu hasil produk fermentasi yang banyak kandungan zat gizi. Komposisi zat gizinya mirip dengan susu bahkan ada beberapa komponen seperti Vitamin B Kompleks, Kalsium dan Protein justru kandungannya relative tinggi. Selama fermentasi yoghurt terjadi sintesis Vitamin B Kompleks khususnya Thiamin (B1) dan Riboflavin (B2), serta beberapa asam amino penyusun protein (legowo, 2002)

### 1.3 Jenis-jenis Yoghurt

Menurut Surajudin dkk (2006), terdapat beberapa jenis yoghurt berdasarkan cita rasa , kandungan lemak, proses pasca fermentasi dan metode pembuatannya.

#### 1.3.1 Jenis Yoghurt Berdasarkan Rasa (Flavor)

1. Plain Yoghurt memiliki rasa asam yang tajam yang merupakan rasa asli dari yoghurt. Karena itu tidak semua atau hanya Sebagian orang yang menyukainya.



2. Flavoured Yoghurt adalah yoghurt yang diberi tambahan rasa sintesis dan pewarna makanan rasa sintesis yang biasa digunakan adalah rasa stroberi, ceri, jeruk, peach, leci, madu, apricot, melon, dan vanilla.
3. Fruit Yoghurt berasal dari sari atau kisan buah seperti manga, nanas, papaya, dan pisang dapat ditambahkan ke dalam plain yoghurt. Yoghurt jenis ini disebut fruit yoghurt atau yoghurt buah. Selain itu aroma dan rasanya menjadi lebih enak, kandungan gizinya pun menjadi lebih lengkap.

### **1.3.2 Jenis Yoghurt Berdasarkan Kandungan Kadar Lemak**

1. Yoghurt kadar lemak tinggi (9,5-10%)
2. Yoghurt kadar lemak sedang (3-4%)
3. Yoghurt kadar lemak rendah (1-2%)
4. Yoghurt kadar lemak sangat rendah (kurang dari 1%)

### **1.3.3 Jenis yoghurt berdasarkan proses pasca fermentasi**

1. Yoghurt Pasteurisasi, yaitu yoghurt yang mengalami proses pasteurisasi. Proses pasteurisasi dilakukan setelah proses inkubasi yang tujuannya untuk memperpanjang umur simpan
2. Yoghurt beku, yaitu yoghurt yang disimpan dalam suhu beku
3. Dietetik Yoghurt, yaitu yoghurt yang dibuat dengan kalori dan laktosa rendah, bisa juga diberi tambahan vitamin atau protein
4. Yoghurt Konsentrat, yaitu yoghurt dengan total padatan sekitar 24% atau yoghurt kering dengan total padatan 90-94%

### **1.3.4 Jenis Yoghurt Berdasarkan Metode Pembuatannya**

1. Strained, metode yang digunakan disini adalah dengan cara mengangkat air didih dari susu
2. Set Yoghurt, jenis yoghurt yang memiliki tekstur lembut dan mampu dimasukkan ke box karton

## 1.4 Mikrobiologi Yoghurt

Yoghurt umumnya dibuat dengan dua jenis bakteri asam laktat (BAL) yaitu *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus* sebagai starter. Namun, kedua bakteri asam laktat yang digunakan dalam pembuatan yoghurt ini tidak bisa hidup dalam lingkungan yang keasamannya tinggi. Jika bakteri tersebut mati ketika saat mencapai usus kecil, maka keuntungan bakteri bagi Kesehatan saluran pencernaan akan berkurang (UNNES, 2019)

### 1.4.1 *Lactobacillus Bulgaricus*

*Lactobacillus Bulgaricus* umumnya digunakan sebagai starter saat pembuatan yoghurt. Bakteri *Lactobacillus Bulgaricus* dikenal pertama kali pada tahun 1905 oleh Stamen Grigorov. Stamen merupakan seorang dokter berasal dari Bulgaria. Manfaat bakteri *Lactobacillus Bulgaricus* untuk Kesehatan manusia adalah sebagai berikut :

1. Meningkatkan kemampuan usus besar menyerap zat mutagenic dan mencegah kanker
2. Meningkatkan kekebalan tubuh dengan kandungan zat antitumor
3. Menurunkan resiko refeksi candida pada penderita diabetes
4. Mencegah osteoporosis



Gambar 26. *Lactobacillus Bulgaricus*

### 1.4.2 *Lactobacillus Casei*

Salah satu spesies bakteri asam laktat yang sering digunakan adalah *Lactobacillus Casei*. Bakteri ini merupakan bakteri probiotik non pathogen yang meningkatkan Kesehatan sistem gastrointestinal inang. Oleh karena itu, bakteri tersebut sering dimanfaatkan untuk proses pembuatan yoghurt yang baik dikonsumsi untuk membantu system pencernaan.



Gambar 27. *Lactobacillus Casei*

Tak hanya ditemukan di tubuh manusia serta hewan, *Lactobacillus Casei* bisa pula terdapat dalam bahan pangan seperti sayur, buah, serta produk fermentasi seperti yoghurt, susu, sehingga rasa dan teksturnya bisa lebih bersahabat di lidah.

## 1.5 Bahan Baku Yoghurt

### 1.5.1 Susu Kedelai

Susu Kedelai atau sari kedelai adalah minuman susu nabati yang terbentuk dari kedelai (*Glycine Max L Metil*). Sari kedelai disebut susu karena minuman ini berwarna putih kekuningan yang mirip dengan susu. Sari kedelai merupakan produk sampingan alami pembuatan tahu. Sari kedelai dapat dijadikan susu bagi orang yang memiliki kondisi intoleransi laktosa, vegan, atau mempunyai Kesehatan dan lingkungan tersendiri.

Klasifikasi kedelai yang digunakan untuk membuat susu kedelai yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub-kingdom	: Tracheabionta (Tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyte (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua)  
Sub-kelas : Rosidae  
Ordo : Fabales  
Famili : Fabaceae  
Genus : Glycine  
Spesies : Glycine max (L) metil



Gambar 28. Susu Kedelai

Susu kedelai juga memiliki manfaat bagi tubuh yaitu sebagai berikut :

1. Kandungan Isoflavon pada kedelai bermanfaat sebagai antioksidan karena mampu memperbaiki sel dan mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh polusi dan sinar matahari
2. Protein dan Isoflavon dalam kedelai dapat mengurangi kolesterol LDL yang biasa disebut kolesterol jahat dan penurunan kemungkinan pembekuan darah
3. Isoflavon juga bertindak sebagai agen antikanker yang membuat sel-sel antikanker
4. Membantu menunda aksi estrogen alami tubuh
5. Protein kedelai membantu dalam penyerapan yang lebih baik kalsium dalam tulang
6. Kandungan Isoflavon pada kedelai membantu untuk mengatur estrogen
7. Protein dan serat yang larut dalam kedelai, mengatur kadar glukosa darah dan filtrasi ginjal
8. Kandungan serat yang tinggi pada kedelai sebagai alat untuk maksimum berat badan

### 1.5.2 Susu Skim

Susu skim adalah susu tanpa lemak yang bubuk susunya dibuat dengan menghilangkan Sebagian besar air dan lemak yang erdapat di susu. Kandungan lemak pada susu skim kurang lebih 1%. Susu skim mengandung semua kandungan yang dimiliki susu pada umumnya kecuali lemak dan vitamin yang larut dalam lemak.

Susu skim dapat dimanfaatkan juga untuk bahan dasar atau keju tanpa lemak sehingga dapat berguna untuk menurunkan kadar kolestrol dalam tubuh susu skim pada umumnya setelah di pasteurisasi, akan mengalami homogenisasi. Homogenisasi bertujuan agar susu lemak stasbil. Namun pada susu skim, lemak akan dikurangi. Oleh karena itu membuat susu skim tidak mungkin dilakukan secara sederhana karena dikonsumsi binaragawan untuk menambah massa otot.

Penggunaan susu skim dalam yoghurt bertujuan untuk menambah memanfaatkan kadar laktosa yang tinggi pada susu skim sehingga akan membuat pertumbuhan bakteri asam laktat tumbuh maksimal.

## 3. ALAT DAN BAHAN

Alat :

- Autoclave
- Inkubator
- Thermometer
- Hot plate
- Pipet ukur 5 ml, 25 ml
- Spatula
- Pipet tetes
- pH-meter digital
- Viscometer
- Neraca analitik
- Kaca arloji
- Batang pengaduk
- Erlenmeyer
- Gelas kimia 50 ml, 250 ml

- Oven
- Bola karet

Bahan :

- Susu kedelai (kacang kedelai, yang dibuat dari susu kedelai)
- Gula pasir
- *Lactobacillus casei*
- Susu skim
- Air
- Essens ( misalnya : strawberry )

**CATATAN :** Alat dan bahan harus steril kecuali starter / bibit

#### **4. PROSEDUR PERCOBAAN**

##### **4.1 Pembuatan Starter**

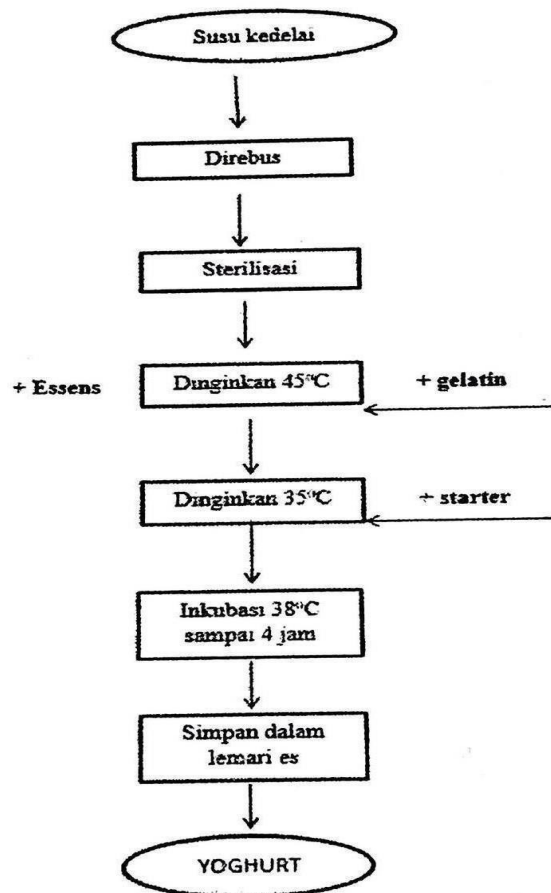
Starter atau bibit adalah sejumlah awal bakteri yoghurt yang ditambahkan kedalam susu agar berkembang biak. Pembuatan starter dapat diambil dari yoghurt yang ada di pasaran dengan syarat, yoghurt tersebut masih mengandung bakteri hidup. Umumnya, pembuatan produk susu hasil fermentasi yang digunakan adalah biakan bakteri penghasil asam laktat.

##### **Langkah Kerja**

1. Masak air 250 ml hingga mendidih, kemudian masukkan susu skim 3 sendok makan
2. Masukkan susu ke dalam erlenmeyer, kemudian disterilkan dalam autoklaf
3. Dinginkan susu hingga 35°C
4. Tambahkan 2 sendok makan minuman yakult sebagai bakteri pengasam (sumber *Lactobacillus*)
5. Masukkan starter tersebut kedalam inkubator selama 7 jam dengan suhu 38°C
6. Simpan starter ke dalam lemari es

#### 4.2 Langkah Kerja Pembuatan Yogurt

1. Rebus susu kedelai yang ditambah susu skim pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit, sambil selalu diaduk supaya tidak gosong.
2. Lakukan sterilisasi pada autoklaf.
3. Dinginkan susu kedelai sampai  $45^{\circ}\text{C}$ , lalu tambahkan gelatin 1 gram pada essens 1 ml (jika digunakan)
4. Tambahkan starter kedalam susu kedelai tersebut pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$
5. Inkubasikan (peram) susu kedelai yang sudah ditambah starter tersebut pada alat inkubator dengan suhu  $38^{\circ}\text{C}$  selama 4 jam, kemudian disimpan di dalam lemari es supaya produk yoghurt tersebut tahan lama.



<b>TBP</b>	<b>PEMBUATAN ALKOHOL (DARI PISANG/NANAS)</b>	
------------	--	---

#### **A. TUJUAN PERCOBAAN**

- Mahasiswa dapat melakukan teknik Fermentasi dari Bahan alam.
- Mahasiswa dapat menentukan kondisi Operasi proses fermentasi.
- Mahasiswa dapat melakukan analisis produk alkohol yang dihasilkan.
- Mahasiswa dapat membuat produk dan menganalisis produk yang didapat dengan proses

#### **B. DASAR TEORI**

Senyawa alkohol merupakan senyawa paling banyak digunakan sebagai pelarut. Pada dasarnya terdapat dua macam cara pembuatan alkohol, yaitu :

- a. Secara sintesa yaitu dengan melakukan reaksi elementer untuk mengubah bahan baku menjadi etanol.
- b. Secara fermentasi yaitu dengan bantuan aktivitas mikroorganisme. Pada pembuatan etanol

Bahan baku untuk industri fermentasi dapat digolongkan menjadi tiga jenis, yaitu:

1. Bahan sakarida : gula tebu, gula bit, molase, jus buah
2. Bahan pati : padi – padian, kentang, gandum
3. Bahan yang mengandung selulosa : limbah kayu

Pemilihan bahan baku yang tepat adalah sangat penting, karena selain pertimbangan mudah tidaknya bahan tersebut diperoleh, juga karena alkohol yang diproduksi dengan bahan yang berbeda akan menghasilkan kualitas yang berbeda- beda.

Jenis mikroorganisme yang sering digunakan untuk proses ini adalah ragi *sacharomyces cereviceae*. Selain itu juga dapat digunakan enzyme yang dapat merubah gula menjadi alkohol untuk menjadi etanol melalui reaksi :





Untuk mendapat etanol, maka proses yang dilakukan adalah anaerobik (tanpa oksigen), sedangkan bila ingin memproduksi sel, maka dilakukan secara aerobik (dengan adanya oksigen).

- Temperatur optimum : 28 – 32°C
- pH media : 4,5 – 4,8
- Kadar gula : 10 - 14%

## 1. Pisang

Pisang merupakan salah satu tanaman hortikultura yang penting di dunia karena potensi produksinya yang cukup besar. Pisang sejak lama telah dikenal sebagai buah yang lezat dan berkhasiat bagi kesehatan misalnya sebagai obat diare. Negara-negara penghasil pisang yang terkenal diantaranya Brasilia, Filipina, Panama, Honduras, India, Equador, Thailand, Karibia, dan Hawaii. Negara-negara Afrika yang menjadi penghasil pisang antara lain Pantai Gading, Pulau Kenari dan Uganda. Penduduk negara itu bahkan mengkonsumsi pisang sebagai makanan pokok (Radiya, 2013).



Gambar 29. Pisang

Pisang merupakan tanaman yang memiliki banyak kegunaan, mulai dari buah, batang, daun, kulit hingga bonggolnya. Tanaman pisang yang merupakan suku Musaceae termasuk tanaman yang besar memanjang. Tanaman pisang sangat menyukai sekali pada daerah yang beriklim tropis panas dan lembab terlebih didataran rendah. Ditemui pula di kawasan Asia Tenggara, seperti Malaysia, Indonesia serta termasuk pulau Papua, Australia Topika, Afrika Tropi. Pisang dapat berubah sepanjang tahun pada daerah dengan hujan merata sepanjang tahun. Umumnya, kebanyakan orang memakan buah pisang saja dan kulitnya akan dibuang begitu saja (Rismunandar, 1990).

Kedudukan tanaman pisang dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub-kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Sub-kelas	: <i>Commelinedae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Musaceae</i>
Genus	: <i>Musa</i>
Species	: <i>Musa paraside</i>

### 1.1 Manfaat Pisang

Tanaman pisang disebut sebagai tanaman serbaguna. Hal ini dikarenakan setiap bagian pisang memiliki manfaat masing – masing. Manfaat – manfaat tersebut yaitu sebagai berikut.

#### 1. Manfaat Buah

Buah pohon pisang adalah bagian utama dan menjadi alasan ekonomis sehingga tanaman ini dibudidayakan. Buah pisang dapat dikonsumsi langsung sebagai pencuci mulut ataupun diolah untuk menghasilkan makanan baru seperti pisang goreng, kolak buah, dan kue bolu. Bahkan pisang muda juga dapat dijadikan sebagai bahan sayur.

#### 2. Manfaat Batang

Batang pisang dapat dimanfaatkan dalam bidang pertanian sebagai media tanam untuk budidaya jamur. Bahkan tanpa harus dibudidayakan pun jamur dapat tumbuh dengan sendirinya di batang pisang yang telah ditebang.

#### 3. Manfaat Daun

Daun pisang merupakan bagian yang paling sering dimanfaatkan selain buahnya. Daun pisang yang lebar dan mudah dibentuk ketika layu membuat daun pisang biasa digunakan sebagai media untuk membungkus makanan seperti lempeng dan kue basah.

#### 4. Manfaat Bunga

Jantung pisang yang merupakan bunga pisang juga dapat dimanfaatkan untuk sajian kuliner atau bahan makanan. Jika buahnya dikonsumsi sebagai makanan selingan, maka bagian jantung pisang dapat diolah menjadi sayur. Cara pengolahannya pun sangat mudah dan bisa dikreasikan dalam berbagai menu yang lezat.



Gambar 30. Bagian Pohon Pisang

#### 1.2 Kandungan Buah Pisang

Berikut ini kandungan buah pisang dalam satu porsi atau satu pisang matang sedang (100 gram), dilansir dari *US Department of Agriculture (USDA)* dan *Harvard.edu* :

- Kalori: 89-110
- Air: 75 persen
- Protein: 1,1 gram
- Karbohidrat: 22,8 gram
- Gula: 12,2-15 gram
- Serat: 2,6-3 gram
- Lemak: 0,3 gram
- Kalium: 450 milligram

Selanjutnya akan di bawah ini menunjukkan jumlah masing-masing nutrisi dalam pisang berukuran sedang. Serta menunjukkan berapa banyak kebutuhan orang dewasa menurut *Dietary Guidelines for Americans*. Bervariasi menurut jenis kelamin dan usia individu.

Nutrient	Amount in one medium banana	Daily adult requirement
Energy (calories)	105	1,800–3,000
Carbohydrate in grams (g)	27, including 14.4 g of sugar	130
Fiber (g)	3.1	25.2–33.6
Protein (g)	1.3	46–56
Magnesium (mg)	31.9	320–420
Phosphorus (mg)	26	700
Potassium (mg)	422	4,700
Selenium in micrograms (mcg)	1.9	55
Choline (mg)	11.6	425–550
Vitamin C (mg)	10.3	75–90
Folate (mcg DFE)	23.6	400
Beta carotene (mcg)	30.7	No data
Alpha carotene (mcg)	29.5	No data

medicalnewstoday.com ©2021 Merdeka.com

## 2. Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*)

*Saccharomyces* adalah genus dalam kerajaan jamur yang mencakup banyak jenis ragi. *Saccharomyces* berasal dari bahasa Latin yang berarti gula jamur. Salah satu contoh adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang digunakan dalam pembuatan anggur, roti, dan bir. Anggota lain dari genus ini termasuk *Saccharomyces bayanus*, digunakan dalam pembuatan anggur, dan *Saccharomyces boulardii*, digunakan dalam obat-obatan. Koloni dari *Saccharomyces* tumbuh pesat dan jatuh tempo dalam 3 hari. Mereka rata, mulus, basah, glistening atau kuyu, dan cream untuk cream tannish dalam warna. Ketidakmampuan untuk memanfaatkan nitrat dan kemampuan untuk berbagai memfermentasi karbohidrat adalah karakteristik khas dari *Saccharomyces*.

Jamur *Saccharomyces cerevisiae*, atau di Indonesia lebih dikenal dengan nama jamur ragi, telah memiliki sejarah yang luar biasa di industri fermentasi. Karena kemampuannya dalam menghasilkan alkohol inilah, *S. cerevisiae* disebut sebagai mikroorganisme aman (Generally Regarded as Safe) yang paling komersial saat ini. Dengan menghasilkan berbagai minuman beralkohol, mikroorganisme tertua yang dikembangkan biakkan oleh manusia ini memungkinkan terjadinya proses bioteknologi yang pertama di dunia (Fardiaz, 1992)



Gambar 31. Ragi

Adapun, berikut ini merupakan klasifikasi ilmiah dari *Saccharomyces cerevisiae* menurut Agustining (2012) :

- Kingdom : *Fungi*
- Filum : *Ascomycota*
- Subfilum : *Saccharomycotina*
- Kelas : *Saccharomycetes*
- Ordo : *Saccharomycotales*
- Famili : *Saccharomycetaceae*
- Genus : *Saccharomycetes*
- Species : *Saccharomyces cerevisiae*

Pada pembuatan alkohol, *sacaromyces cereviceae* berperan dalam proses fermentasi untuk menghasilkan minuman beralkohol. Pada proses fermentasi *Sacaromyces cereviceae* memerlukan kondisi khusus untuk pertumbuhan dan perkembangannya sehingga minuman yang dihasilkan memiliki kadar alkohol cukup tinggi. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses fermentasi) :

1. Kadar Gula

*Sacaromyces cereviceae* bekerja aktif pada kadar gula 10-15%. Namun pada kadar gula diatas 20% mikroba sulit berkembahng biak, hal ini dikarenakan gula juga dapat berfungsi sebagai bahan pengawet apabila dalam jumlah yang banyak.

2. Starter

Starter berfungsi untuk mempersingkat waktu adaptasi dan menekan pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan.

3. Suhu

Suhu optimum pada pertumbuhan *Sacaromyces cereviceae* adalah 30°C, sedangkan pada suhu diatas 30°C *Sacaromyces cereviceae* akan menjadi non aktif.

4. pH

pH optimum pertumbuhan *Saccharomyces cereviceae* adalah 3,5 sampai 4. Apabila pH dibawah 3,5 mengakibatkan proses peragian berlangsung lambat dan jika pH diatas 4 mengakibatkan hasil peragian kurang baik.

5. Penambahan nutrient

*Saccharomyces cereviceae* dapat tumbuh dengan baik pada media yang mengandung unsur karbon, nitrogen, phosphate.

### 3. Gula

Menurut Wahyudi (2013), gula adalah suatu karbohidrat sederhana yang menjadi sumber energi dan komoditi perdagangan utama. Gula paling banyak diperdagangkan dalam bentuk kristal sukrosa padat. Gula digunakan untuk mengubah rasa menjadi manis dan keadaan makanan atau minuman. Gula sederhana, seperti glukosa (yang diproduksi dari sukrosa dengan enzim atau hidrolisis asam), menyimpan energi yang akan digunakan oleh sel. Gula sebagai sukrosa diperoleh dari niratebu, bit gula, atau aren. Gula merupakan hal paling banyak digunakan dan memegang peranan penting dalam kehidupan manusia. Berbagai makanan dan minuman menggunakan bahan dari gula untuk pemanis misalnya dari makanan kue, biskuit, roti, martabak manis dan sebagainya. Karena kebutuhan gula semakin bertambah hampir 95%, maka produksi gula semakin meningkat (Mucthadi, 1989).



Gambar 32. Gula

#### 4. Urea

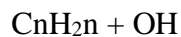
Urea adalah senyawa organik yang tersusun dari unsur karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen dengan rumus  $\text{CON}_2\text{H}_4$  atau  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ . Urea juga dikenal dengan nama carbamide yang terutama digunakan di kawasan Eropa. Nama lain yang juga sering dipakai adalah carbamide resin, isourea, carbonyl diamide dan carbonyldiamine. Senyawa ini adalah senyawa organik sintesis pertama yang berhasil dibuat dari senyawa anorganik, yang akhirnya meruntuhkan konsep vitalisme (Hendrianie, 2001).



Gambar 33. Urea

#### 5. Alkohol

Alkohol adalah istilah umum untuk semua jenis senyawa turunan alkana yang mengikat gugus hidroksil (OH). Satu atau lebih atom H ketika diganti dengan gugus fungsi tertentu akan membentuk senyawa turunan. Jadi, ketika atom H dari suatu senyawa tersebut digantikan dengan gugus fungsi -OH, itulah yang akan menghasilkan senyawa alkohol. Alkohol memiliki nama kimia atau rumus kimia seperti berikut ini:



Rumus kimia tersebut adalah rumus umum yang dimiliki oleh alkohol. Selain itu, terdapat jenis-jenis alkohol, misalnya metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) dan etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ).

### 5.1. Jenis dan Manfaat Alkohol

1. Metanol

Alkohol jenis ini bermanfaat sebagai bahan pelarut, plastik, sampai bahan pembuatan pupuk. Selain itu, metanol berfungsi untuk membuat senyawa-senyawa lain, seperti metil ester, asam etanoat, dan formaldehid.

2. Etanol

Alkohol jenis ini yang sebenarnya digunakan dalam minuman beralkohol. Selain menjadi bahan minuman, etanol bisa dimanfaatkan pada pewarna makanan, obat-obatan, pelarut parfum, sampai desinfektan untuk pembersih luka.

3. Gliserol

Kalau alkohol jenis ini, bermanfaat sebagai bahan obat-obatan, pelumas, dan berbagai fungsi lainnya di bidang kesehatan. Di kehidupan sehari-hari, alkohol jenis ini juga kita temukan sebagai bahan pada produk-produk kecantikan, contohnya pelembap wajah.

4. Etilen Glikol

Salah satu manfaat senyawa ini adalah sebagai bahan antibeku, contohnya pada campuran air radiator di mobil. Fungsi ini amat membantu di negara yang memiliki musim dingin. Selain itu, kita bisa menemukan alkohol jenis ini pada bahan tambahan cat, cairan lem, dan lain-lain.

### 5.2. Proses Fermentasi Alkohol

Fermentasi adalah suatu reaksi oksidasi-oksidasi didalam sistem biologi yang menghasilkan energi, dimana sebagai donor dan akseptor elektron menggunakan senyawa organik. Senyawa organik yang bisa digunakan sebagai substrat adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi-reaksi

dengan katalis enzim menjadi suatu bentuk lain misalnya aldehid dan dapat dioksidasi menjadi asam (Margono, 2000).

Jalur yang digunakan untuk fermentasi alkohol adalah respirasi anaerob dan penggolongan asam piruvat yang ada merupakan hasil dari glikolisis. Dalam fermentasinya akan menghasilkan etanol untuk produk terakhir pada reaksi yang terjadi. Fermentasi ini menggunakan khamir atau jamur uniselular.



Berikut ini merupakan tahapan pada fermentasi alkohol.

1. Glikolisis

Glikolisis adalah perubahan berupa reaksi perombakan glukosa yang ada pada sitoplasma dan menghasilkan kandungan seperti asam piruvat, 2 ATP, dan 2 NADH. Kehadiran enzim respirasi jelas sangat berpengaruh dalam proses ini karena nantinya akan menghasilkan dua molekul berupa asam piruvat. Adanya asam ini adalah senyawa berkarbon tiga yang sebagai substrat untuk reaksi berikutnya.

2. Reduksi Asam Priuvat

Setelah 2 asam piruvat dari proses glikolisis terbentuk, maka akan direduksi menjadi dua buah molekul asetaldehid. Enzim piruvat dekarboksilase harus ada pada proses ini, tujuannya agar proses menjadi lebih sempurna. Asam piruvat sendiri akan dipecah menjadi karbon asetaldehid dan karbondioksida. Senyawa karbondioksida akan dilepas dan senyawa astaldehid digunakan pada proses selanjutnya.

3. Reduksi Asetaldehid

Pereduksian asetaldehid merupakan proses akhir dalam fermentasi ini. Nantinya dua molekul asetaldehid akan direduksi menjadi dua molekul etanol yang akan dikatalisis oleh alkohol dehidrogenase. Fungsi enzim akan membantu dalam memecah kandungan NADH agar menjadi ion Hidrogen dan ion NAD. Ion Hidrogen sebagai pembentuk dari etanol, NADH untuk donor pada elektron.

### 5.3. Reaksi Fermentasi Alkohol

Pada alkohol, akan terjadi reaksi dalam fermentasi yang ada pada saat alkohol akan berproses. Awalnya adalah bahan dengan kandungan glukosa yang akan melalui proses lisis di dalam glukosa pada sitoplasma. Reaksi pertama ini adalah pemecahan dari bentuk senyawa yang menjadi 2 piruvat, 2 NADH dan 2 ATP saat selesai terjadi pada proses awal.

Reaksi selanjutnya adalah perpindahan ke mitokondria jika dilakukan pada tempat yang banyak oksigen. Namun, karena proses ini juga dengan bantuan *Sacharomyces Cerevisae* maka tanpa oksigen juga tidak masalah. Maka dalam

respirasi yang terjadi pada saat itu asam piruvat yang ada akan menjadi asetal dehide dan akan berubah lagi menjadi Etanol nantinya.

#### **5.4. Faktor Fermentasi Alkohol**

Berikut ini faktor yang berpengaruh untuk fermentasi alkohol:

1. Suhu

Tentunya untuk sebagian orang pasti memahami suhu yang ada pada saat akan melakukan fermentasi. Suhu ini akan menentukan dalam kemampuan mikroorganisme yang mendukung proses ini agar bekerja dengan baik. Hal ini akan berguna agar membuat kualitas fermentasi juga meningkat dan akan lebih cepat.

2. Mikroba

Dalam mikroba yang akan digunakan, hal yang wajib dilakukan tentunya membuat agar mikroba dapat bertahan. Biasanya penyimpanan pada mikroba tergantung dari jenis mikroba yang akan dibutuhkan pada saat akan melakukan fermentasi. Pilihannya adalah menyimpannya dengan keadaan yang kering atau beku suhu stabil.

3. Waktu

Laju pertumbuhan di dalam mikroba bakteri yang akan digunakan untuk fermentasi tentunya bergantung pada waktu. Dalam kondisi yang bagus, bakteri membelah diri setiap 20 menit. Tentunya semakin banyak mikroba yang mendukung dari proses fermentasi yang akan dilakukan, maka lebih besar kemungkinan berhasilnya.

#### **5.5. Fase Fermentasi**

Pada awal fermentasi aktifitas enzim masih sangat rendah. Aktifitas enzim akan meningkat sejalan dengan penambahan waktu fermentasi dan menurun pada hari ke-10. Hal ini mengikuti pola pertumbuhan mikroorganisme yang mengalami beberapa fase pertumbuhan yaitu fase lag (adaptasi), fase eksponensial (logaritma), fase stasioner dan fase kematian (Lila dan Sudjadi, 2006) fase pertumbuhan bakteri dibagi menjadi 4 fase, yaitu (Fang, 2008) :

1. Fase Lag (Fase Adaptasi)

Fase lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru.

Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada media.

2. Fase Eksponensial (Logaritma)

Fase eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Variasi derajat pertumbuhan bakteri fase eksponensial ini sangat dipengaruhi sifat genetik yang diturunkannya. Sekain itu, derajat pertumbuhan juga dipengaruhi oleh kadar nutrient dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi. Ketika derajat pertumbuhan bakteri telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan jumlah sel yang hidup.

3. Fase Stasioner

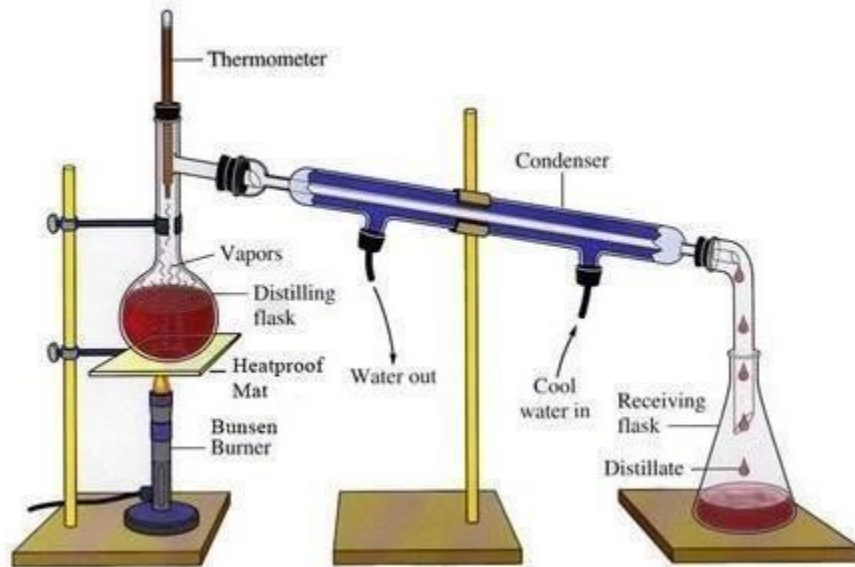
Fase stasioner merupakan saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat sembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembuatan sel.

4. Fase Kematian

Fase kematian ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan. Hal ini Karen kandungan nutrisi pada media tumbuh mulai habis dan terjadi persainga untuk memperoleh nutrisi.

## 6. Destilasi

Destilasi adalah pemisahan dua zat atau lebih yang mempunyai perbedaan titik didih. Destilasi yang digunakan untuk pemisahan alkohol dan air menggunakan destilasi bertingkat. Destilasi bertingkat atau fraksional adalah suatu proses destilasi berulang untuk memisahkandua jenis cairan yang sama -sama mudah menguap. Prinsip dari destilasi bertingkat yaitumemisahkan komponen yang memiliki perbedaan titik didih yang berdekatan denganmenggunakan rangkaian kondensor yang lebih baik dari destilasi sederhana.



Gambar 34. Proses dan alat destilasi

Titik didih alkohol adalah  $78^{\circ}\text{C}$  dan titik didih air adalah  $100^{\circ}\text{C}$ . Campuran tersebut dicampurkan dalam labu didih. Pada suhu sekitar  $78^{\circ}\text{C}$  alkohol mulai mendidih tetapi sebagian air juga ikut menguap. Oleh karena alkohol lebih mudah menguap, kadar alkohol dalam uap lebih tinggi daripada kadar alkohol dalam campuran semula. Ketika mencapai kolom fraksionasi, uap mengembun dan memanaskan kolom tersebut. Setelah suhu kolom mencapai  $78^{\circ}\text{C}$ , alkohol tak lagi mengembun sehingga uap yang mengandung lebih banyak alkohol naik ke kolom di atasnya, sedangkan sebagian air turun ke dalam labu didih. Proses seperti itu berulang beberapa kali sehingga diperoleh alkohol yang lebih murni.

Dalam hal ini pengaturan suhu adalah bagian penting, karena bila dapat mempertahankan suhu titik didih alkohol, kadar alkohol yang diperoleh akan semakin tinggi. Meskipun pengaturan suhu sudah dilakukan tapi uap air juga ada yang ikut menguap, sehingga kadar maksimal yang bias diperoleh sekitar 95%.

## 7. Analisis Kadar Alkohol dengan Refraktometer

Refraktometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur kadar/konsentrasi bahan terlarut. Misalnya gula, garam, protein, dsb. Prinsip kerja dari refraktometer sesuai dengan namanya adalah memanfaatkan refraksi cahaya. Bila seberkas sinar dilewatkan dari satu medium ke medium yang lain, akan terjadi perubahan kecepatan sinar. Perubahan kecepatan sinar ini disebut dengan

pembiasan. Perbandingan kecepatan sinar didalam medium vakum dengan dalam medium zat disebut dengan indeks bias ( $n$ ) dari zat.



Gambar 35. Refraktometer

Indeks bias adalah perbandingan kecepatan cahaya dalam udara dengan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Indeks bias berfungsi untuk identifikasi zat kemurnian, suhu pengukuran dilakukan pada suhu 20°C dan suhu tersebut harus benar-benar diatur dan dipertahankan karena sangat mempengaruhi indeks bias. Harga indeks bias dinyatakan dalam farmakope Indonesia edisi empat dinyatakan garis (D) cahaya natrium pada panjang gelombang 589,0 nm dan 589,6 nm. Umumnya alat dirancang untuk digunakan dengan cahaya putih. Alat yang digunakan untuk mengukur indeks bias adalah refraktometer ABBE. Untuk mencapai kestabilan, alat harus dikalibrasi dengan menggunakan plat glass standart (Anonim, 2010).

Besarnya harga indeks bias zat tergantung pada densiti, temperatur dan macam medium yang dilewati sinar, serta panjang gelombang sinar yang dipakai. Berikut ini merupakan tabel indeks dari beberapa zat.

Medium	Indeks bias
udara	1,000293
air	1,333
etanol	1,36
es	1,31
silika	1,46
Kaca jendela	1,52
Kaca flinta	1,62
safir	1,77
intan	2,42

**B. TUJUAN PERCOBAAN**

- Mahasiswa dapat melakukan teknik fermentasi dari bahan alam
- Mahasiswa dapat menentukan kondisi operasi proses fermentasi
- Mahasiswa dapat melakukan analisis produk alkohol yang dihasilkan
- Mahasiswa mampu membuat produk dan menganalisis produk yang didapat dengan proses fermentasi

**C. Alat dan Bahan**

Alat dan bahan :

Labu Erlenmeyer, alat pemotong, Fermentor, Seperangkat alat destilasi, Alat uji kadar alkohol

**D. Prosedur Percobaan**

Proses pembuatan alkohol dilakukan secara tiga tahap, dilanjutkan dengan analisa hasil yaitu:

1. Tahap pembuatan starter
2. Tahap fermentasi dalam reaktor
3. Tahap pemurnian dengan alat destilasi
4. Tahap analisis

**TAHAP 1 : PEMBUATAN STARTER**

- a. Peralatan : labu erlenmeyer 1 liter, leher angsa, gelas kimia 1 liter, spatula, thermometer, hotplate, kertas saring dan funnel, serta neraca analitik
- b. Bahan : ragi tape 15 g, gula pasir 10 g, ubi kayu / pisang diambil ekstraknya 1 Kg dalam 500 ml air, urea = 0,6 g,  $\text{KNO}_3 = 0,05$  g,  $\text{Na}_3\text{PO}_4 = 0,05$  g, 0,05 g,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 N secukupnya.
- c. Langkah Percobaan:
  1. Di dalam gelas kimia 1 liter siapkan ekstrak ubi kayu dengan cara ubi kayu 1 Kg dikupas, dicuci bersih, lalu diparut atau diblender tambahkan air masak (hangat kuku), kemudian disaring hingga diperoleh ekstrak ubi tau pisang sebanyak 500 ml. Pasteurisasikan pada suhu 70-80°C selama 10 menit, kemudian dinginkan hingga suhu ruang.
  2. Saring ekstrak dengan saringan kain, tambahkan ragi tape sebanyak 15 g

- yang telah dihaluskan, gula pasir 10 g, urea = 0,6 g,  $\text{KNO}_3$  = 0,5 g,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  = 0,05g,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,= 0,1 N secukupnya atau hingga pH larutan 4.
3. Siapkan labu erlenmeyer 1 liter dan leher angsa, masukkan larutan ke dalam erlenmeyer,tutup dengan leher angsa yang telah berisi larutan asam sulfat 0,1 N.
  4. Inkubasi selama 7 hari pada suhu kamar, setiap hari diambil 1 tetes, tetskan pada preparatdan analisis dengan mikroskop untuk dihitung jumlah mikrobanya hingga 7 hari kedepan.
  5. Tentukanlah kurva pertumbuhan yang akan dihasilkan sehingga diketahui bahwa waktu fermentasi optimum alkohol terbentuk pada hari ke berapa.

## **TAHAP 2 : FERMENTASI DI DALAM FERMENTOR**

### **Peralatan dan bahan**

- a. Peralatan : gelas kimia 2000 ml, spatula, thermometer, hot plate, kertas saring dan funnel,neraca analitik, 1 pcs peralatan fermentor.
- b. Bahan: ragi tape 15 g, gula pasir 10 g, ubi kayu/ pisang diambil ekstraknya 1 Kg dalam 500 ml air, urea = 0,6 g,  $\text{KNO}_3$  = 0,5 g,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  = 0,05g,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,= 0,1 N secukupnya.
- c. Langkah Kerja:
  1. Didalam gelas kimia 2000 ml siapkan ekstrak ubi kayu dengan cara ubi kayu 2 Kg dikupas, dicuci bersih, lalu diparut atau diblender tambahkan air masak (hangat kuku).
  2. Kemudian disaring hingga diperoleh ekstrak ubi atau pisang sebanyak 1000 ml. Pasteurissasikan pada suhu 70-80°C selama 10 menit, kemudian dinginkan hingga suhu ruang.
  3. Saring ekstrak dengan saringan kain, tambahkan ragi tape sebanyak 35 g yang telah dihaluskan, gula pasir 20 g, urea = 1,2 g,  $\text{KNO}_3$  = 0,1 g,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  = 0,1 g,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,= 0,1 N secukupnya atau hingga pH larutan 4.
  4. Siapkan alat fermentor, masukkan larutan kedalam fermentor, hidupkan alat fermentoryang telah berisi larutan. Inkubasikan selama 7 hari.

### **TAHAP 3 : PEMURNIAN DENGAN DESTILASI**

a. Peralatan dan Bahan :

Alat : 1 set peralatan destilasi, saringan kain.

Bahan : Larutan Alkohol hasil fermentasi

b. Pelaksanaan:

1. Keluarkan dan saring larutan alkohol dalam fermentor dengan baik.
2. Kemudian dipindahkan larutan yang telah disaring masukkan kedalam labu godok leher 3.
3. Set alat destilasi hidupkan pemanas jaga suhu distilat pada 80°C hingga destilasi tidak menghasilkan distilat hentikan dan matikan alat.
4. Timbang produk yang didapat.

### **TAHAP 4 : Analisis Hasil**

a. Peralatan dan Bahan :

1. 10 buah tabung reaksi + rak tabung
2. 1 set alat refraktometer.
3. 1 buah pipet tetes
4. 5 ml etanol murni
5. 5 ml etanol hasil destilasi
6. 5 ml aquadest

b. Pelaksanaan:

1. Keluarkan dan saring larutan alkohol dalam fermentor dengan baik.
2. Kemudian dipindahkan larutan yang telah disaring masukkan kedalam labu godok leher 3.
3. Set alat destilasi hidupkan pemanas jaga suhu distilat pada 80°C hingga destilasi tidak menghasilkan distilat hentikan dan matikan alat.
4. Timbang produk yang didapat.



<b>TBP</b>	<b>PEMBUATAN KOMBUCHA</b>	
------------	---------------------------	---

### **A. TUJUAN PERCOBAAN**

- Mahasiswa dapat mengetahui proses pembuatan kombucha

### **B. DASAR TEORI**

Syarat kondisi pembuatan kombucha antara lain:

- a. Tidak boleh ada guncangan atau getaran.
- b. Tidak boleh terkena sinar matahari secara langsung.

Lama fermentasi berkisar 4-14 hari. Semakin lama fermentasi maka akan semakin asam dan rasa manis semakin berkurang. Lama fermentasi yang disarankan adalah 14 hari karena gula telah benar-benar difermentasi dan minuman memiliki rasa yang kuat seperti anggur.

Pada fermentasi 10 hari, dengan kadar gula awal 8%, akan diperoleh fruktosa 25 g/l, asam glukonat 3,1 g/L dan asam asetat 2 g/L. Jika fermentasi diperpanjang menjadi 13 hari, maka fruktosa menjadi 15,03 g/L, asam glukonat 6,64 g/L dan asam asetat 8,61 g/L.

Kombucha selain dibuat dari teh juga dapat dibuat dari berbagai bahan baku seperti apel, wortel, dan sebagainya jika akan digunakan untuk minuman atau dan limbah pertanian seperti limbah cair tahu, tempe dan tapioca jika akan digunakan untuk produksi selulosa.

### **C. ALAT DAN BAHAN**

Alat:

- a. Sendok
- b. Saringan the
- c. Botol
- d. Wadah kaca
- e. Kain saring
- f. Parutan wortel
- g. Kain kasa

Bahan:

- a. Air
- b. Teh
- c. Gula
- d. Madu
- e. Wortel

#### **D. PROSEDUR PERCOBAAN**

##### **Cara Pembuatan**

Untuk membuat kombucha, langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

1. Buat minuman teh biasa: air + teh sendok dididihkan 15 menit.
2. Saring teh dan dinginkan.
3. Tambahkan gula 10% dan aduk sampai larut. Masukkan wadah yang bersih. Setelah teh dingin, tambahkan kultur yang berbentuk padat dan cairan induk sebanyak 10%. Cairan dan padatan ini berasal dari fermentasi sebelumnya
4. Inkubasi 1-2 minggu. Setelah fermentasi selesai, saring teh hasil fermentasi. Masukkan dalam botol diisi sesuai volume lakukan yang bersih dan steril. Setelah pasteurisasi dan siap dipasarkan

##### **Cara Membuat Kombucha dari Teh Celup**

1. Panaskan air, tambahkan teh celup 500 ml lalu tambahkan gula
2. sendok makan 2. Dinginkan + 500 ml bibit kombucha
3. Masukkan ke dalam botol dan tutup dengan kain kasa, diamkan selama 2 minggu

##### **Cara Membuat Kombucha dari Wortel**

1. Wortel di chopper sampai halus
2. Saring
3. Tambahkan ekstrak wortel menjadi 500 ml. Lalu pasteurisasi + gula pasir 1 sendok makan. Suhu 60-70°C, dinginkan sampai 30°C
4. Tambahkan bibit kombucha sebanyak 50 ml
5. Masukkan dalam botol, tutup dengan kain kasa
6. Diamkan selama 2 minggu sampai terbentuk lapisan bibit

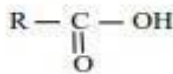
<b>TBP</b>	<b>PEMBUATAN ASAM ASETAT</b>	
------------	------------------------------	--

### A. PEMBUATAN ASAM ASETAT

- Membuat inokulum untuk bahan dasar pembuatan asam asetat.
- Membiakan starter asam asetat dengan menggunakan mikroba.
- Membuat asam asetat dengan fermentasi aerob.
- Membandingkan produk asam asetat yang terbentuk dengan berbagai kondisi operasi.
- Mengukur Volume Larutan, Densitas Larutan, dan Kadar Asam Asetat.

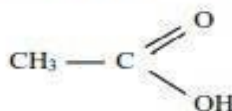
### B. DASAR TEORI

Asam asetat merupakan salah satu produk industri yang banyak dibutuhkan di Indonesia. Asam asetat dapat dibuat dari substrat yang mengandung alkohol, yang diperoleh dari berbagai macam bahan seperti buah buahan, kulit nanas, pulp kopi, dan air kelapa. Hasil dari fermentasi asam asetat sering disebut sebagai vinegar yang berarti sour wine. Dalam keadaan murni asam asetat bebas dari air (asam asetat glasial) merupakan cairan berwarna bening yang menyerap air dari lingkungan (bersifat higroskopis) dan membeku di bawah suhu 16,7°C (62°F) menjadi sebuah kristal padat tidak berwarna (Eric, 2013). Asam asetat atau acetic acid atau ethanoic acid adalah senyawa organik yang termasuk dalam golongan carboxylic acid dengan gugus fungsinya adalah:



Gambar 12.1. Gugus Fungsi Asam Karboksilat

Sedangkan rumus kimia dari asam asetat adalah:



### **Karakteristik Asam Asetat Sifat Fisika**

Sifat isika dari asam asetat adalah berbentuk cair jernih, tidak berwarna, berbau menyengat, berasa asam, mempunyai titik beku 16.6°C, titik didih 118.1°C, berat molekul 60.05, dan larut dalam alkohol, air dan ester. Asam asetat tidak larut dalam *karbon disulfide*. Asam asetat dibuat dengan cara fermentasi alkohol dengan bakteri *acetobacter*, pembuatan macam ini biasa digunakan dalam pembuatan cuka pada makanan (Sarsojoni, 1996).

### **Sifat Kimia**

Asam asetat mudah menguap di udara, mudah terbakar, dan dapat menyebabkan korosif pada logam. Asam asetat larut dalam air pada suhu 20°C, etanol, dan gliserol pekat. Asam asetat jika diencerkan tetap bereaksi asam. Penetapan kadar asam asetat biasanya menggunakan basa natrium hidroksida, dimana 1 ml natrium hidroksida 1 N setara dengan 60.05 mg CH<sub>3</sub>COOH (DepKes RI, 1994).

### **Kegunaan Asam Asetat**

Asam asetat merupakan sumber utama dalam pembuatan garam, *derivate*, dan ester asam asetat. Asam asetat dapat digunakan sebagai pelarut zat organik yang baik dan untuk membuat selulosa asetat yang dibutuhkan untuk pembuatan film, rayon, dan selofan. Asam asetat juga sebagai pengawet, bumbu-bumbu masak, untuk membuat ester, zat warna dan propanon. Selain itu asam asetat dapat digunakan sebagai antiseptik, mencegah tumbuhnya jamur pada roti, serta penambah rasa pada makanan dalam industri makanan seperti memperbaiki *flavor* pada pembuatan *mayonaise*, dan memperbaiki *flavor* dan pengawet pada pembuatan acar (Yuniar, 2009).

Faktor-faktor yang Diperhatikan dalam Pembuatan Asam Asetat, yaitu :

#### **a. Pemilihan Mikroba Asam Asetat**

Bakteri yang dapat memenuhi syarat yaitu yang produktivitanya tinggi dan mempunyai rasa enak. Sebagai contoh *bacterium schutzen bachil* atau *bacterium cuvrum* biasanya dipakai untuk memproduksi asam asetat biasanya dipakai asam asetat dari etanol dengan quick vinegar process, sedangkan *bacteruim orleanense* pada proses orleans (proses lambat) (Asworo, 2012).

b. Waktu Fermentasi

Salah satu factor pengaruh fermentasi asam asetat yaitu waktu fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi, maka konsentrasi gula reduksi akan semakin rendah, konsentrasi ethanol yang dihasilkan akan semakin besar, dan semakin besar pula konsentrasi asam asetat yang dihasilkan (Hardoyo,2007). Sebelum fermentasi asam cuka, gula yang berasal dari bahan dasar difermentasikan menjadi alkohol, sehingga yeast yang dipakai harus diseleksi, demikian juga faktor faktor yang mempengaruhi selama fermentasi menjadi alkohol harus diperhatikan (Asworo, 2012).

c. Keasaman

Kadar alkohol terbaik dan dapat segera difermntasikan 10-13%. Bila kadar alkohol 14% atau lebih maka oksidasi alkohol menjadi asam cuka tidak atau kurang sempurna sebab perkembangan bakteri asam cuka terhambat. Sedang bila kadar alkohol rendah mungkin akan banyak vinegar yang hilang bahkan pada konsentrasi alkohol 1-2% ester dan asam cuka akan dioksidasi yang mengakibatkan hilangnya aroma dan flavor (aroma dan flavor menjadi jelek) (Kusnadi, 2003).

d. Suhu

Suhu selama fermentasi mempengaruhi pertumbuhan dari bakteri asam asetat. Bila suhu: 12-15°C: pertumbuhan bakteri lambat, sel selnya menjadi gemuk, pendek. 42-45°C: sel bakteri akan memanjang membentuk semacam miselium yang tidak bersekat. 15-34°C: pertumbuhan sel normal dan cepat. Untuk fermentasi asam asetat suhu yang paling sesuai 26,7- 29,4°C, sebab bila suhu rendah fermentasi akan berjalan lambat sedang bila suhu tinggi akan banyak alkohol yang menguap bersama-sama dengan bahan-bahan volatile yang membentuk flavor dan aroma dari asam asetat, sehingga asam asetat yang dihasilkan akan mempunyai flavor ataupun aroma yang kurang sedap atau enak (Waluyo, 1986).

e. Penambahan Alkohol

Alkohol dalam konsentrasi tinggi akan memperlemah aktivitas, bahkan bisa menjadi racun bagi bakteri acetobacter aceti pada proses fermentasi asam asetat. Adapun konsentrasi alkohol yang digunakan adalah antara 6% sampai 12%. Pada proses pembuatan asam asetat terdapat dua tahap pembentukan

yaitu pembentukan etanol dan asam asetat. Alkohol sangat berperan aktif dalam pembentukan etanol sehingga tahap pembentukan etanol dapat lebih cepat terjadi. Hal ini menyebabkan asam asetat yang terbentuk juga semakin cepat (Hardoyo, 2007).

f. Starter Asam

Asetat Starter adalah populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan dengan biakan murni. Pada pembuatan asam asetat dipergunakan starter air legen. Legen adalah cairan yang disadap dari bunga pohon siwalan, cairan ini mengandung gula antara 10-15%. Glukosa yang terkandung dalam nira menunjang pertumbuhan aktif organisme-organisme fermentative (Rukmana, 1998). Legen (nira siwalan) yang disimpan pada suhu kamar akan mengalami proses fermentasi atau peragian gula karena adanya proses enzimatis. Bahan baku energi yang paling banyak digunakan adalah glukosa. Metabolisme tipe anaerobik menghasilkan sejumlah kecil energi, karbondioksida, air, dan produk akhir metabolik organik lain, seperti asam laktat, asam asetat, dan etanol (Buckle et.al, 1985).

Komponen	Jumlah
Total gula (g/100 cc)	10,93
Gula reduksi (g/100 cc)	0,96
Protein (g/100 cc)	0,35
pH (g/100 cc)	6,7-6,9
Mineral sebagai abu (g/100 cc)	0,54
Kalsium (g/100 cc)	Sedikit
Fosfor (g/100 cc)	0,14
Besi (g/100 cc)	0,4
Vitamin C (mg/100 cc)	13,25

Sumber: Davis and Johnson, 1987

## **TOMAT**

### **Kandungan Nutrisi pada Tomat**

Satu buah tomat yang berukuran sedang hanya menyediakan 22 kalori, 0 gram lemak, dan 5 gram karbohidrat - termasuk 1 gram serat, 3 gram gula, dan 1 gram protein. Tomat merupakan buah sayur yang kaya akan vitamin A dan C dan asam folat - 3 buah nutrisi yang paling dibutuhkan setiap hari terutama untuk ketahanan tubuh. Tomat masih banyak menyediakan beragam nutrisi lainnya, yang kesemuanya bermanfaat termasuk antioksidan asam alfa lipoic, likopen, kolin, asam folat, beta-karoten dan lutein.

## **C. ALAT DAN BAHAN**

Alat yang digunakan yaitu sebagai berikut.

- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Baker glass
- Buret, statif, klem
- Aerator
- Pipet tetes
- Kompor Listrik
- Autoclave
- Pengaduk

Bahan yang digunakan yaitu sebagai berikut.

- Air legan 800 ml
- Tomat segar 450 ml
- Tomat busuk 450 ml
- Indikator PP
- NaOH 0,05 N
- Sukrosa 25 gram
- Ragi roti 0,5% W

Variabel

- Variabel tetap: sari buah tomat segar 450 ml dan sari buah tomat busuk
- Variabel berubah: pH starter 2, 3, 4, jenis starter air legen.

#### **D. PROSEDUR PERCOBAAN**

Ada tiga tahapan dalam pembuatan Asam Asetat:

##### **Pembuatan Starter**

1. Sterilisasi alat dengan menggunakan autoclave.
2. Air legen dipanaskan dalam heaker glass pada suhu 60°C selama 30 menit.
3. Kemudian didinginkan hingga suhu 30°C.
4. Tambahkan glukosa anhidrit. dan alkohol ke dalamnya sesuai dengan takaran, atur pH = 7 dengan menggunakan etanol dan NaOH.
5. Masukkan ke dalam erlenmeyer, tutup rapat menggunakan aluminium foil, pasang selang aerator.
6. Lakukan aerasi selama 7 hari dan jaga aerasi berjalan lancar.

##### **Mempersiapkan Bahan**

1. Sari buah tomat dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 menit.
2. Kemudian didinginkan hingga suhu 30°C.
3. Tambahkan sukrosa 25 gram, atur pH = 4 dengan menggunakan etanol atau NaOH. Tambahkan ragi roti 0,5% W.
4. Masukkan ke dalam botol aqua 1,5 liter tutup rapat.
5. Simpan selama 7 hari.

##### **Pembuatan Asam Asetat**

1. Mengukur volume sari buah, alkohol, dan starter sesuai dengan variabel.
2. Menambahkan alkohol ke dalam sari buah sebagai media fermentasi.
3. Mengatur pH fermentasi sesuai dengan variabel.
4. Mencampurkan starter ke dalam media sesuai dengan variabel.
5. Mengukur volume awal, densitas awal, serta kadar asam awal dengan titrasi asam basa (catat volume titran).



<b>TBP</b>	<b>PEMBUATAN NATA DE COCO</b>	
------------	-------------------------------	---

## A. TUJUAN

- Mahasiswa mampu mengetahui proses pembuatan nata de coco.

## B. TEORI

### 1. Air kelapa

Air kelapa merupakan media yang sangat sesuai untuk pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme. Nata de coco merupakan salah satu produk hasil olahan kelapa yang menggunakan proses fermentasi. Pada pengolahan air kelapa yang menjadi nata de coco mikroorganisme yang berperan adalah *Acetobacter xylinum*. Selain itu faktor lain yang juga berperan adalah pH dan suhu fermentasi.

Diantara faktor-faktor tersebut yang paling berperan adalah mikroorganisme, karena bagaimanapun banyak nutrisi yang ditambahkan ataupun kondisi medianya sudah baik tetapi bila mikroorganisme kurang maka proses fermentasi untuk pembentukan nata de coco tidak berjalan dengan baik pula. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas bakteri sangat menentukan hasil yang akan diperoleh.

Air kelapa dapat dimanfaatkan dengan bantuan mikroorganisme (bakteri) seperti alkohol, asam cuka dan nata de coco karena air kelapa ini rasanya manis dan mengandung mineral 4%, gula 2% dan air. Air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai media yang sangat sesuai untuk pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme. Oleh karena itu proses fermentasi merupakan tahap yang tidak dapat disampingkan.

Air kelapa yang mengalami fermentasi akan mengandung berbagai jenis bakteri seperti *Saccharomyces* dan *Acetobacter*, karena air kelapa yang telah mengalami fermentasi banyak mengandung asam maka bakteri yang tumbuh lebih cepat dan lebih banyak adalah *Acetobacter xylinum*. Komposisi air kelapa banyak mengandung mineral dan vitamin sehingga dapat dijadikan media yang baik dalam pertumbuhan mikroba dibantu dengan gula yang terdapat dalam air kelapa maka akan terjadi fermentasi dengan mudah menjadi alkohol dan asam asetat.

### 2. Nata de coco

Nata de coco sebenarnya terjadi karena proses fermentasi glukosa yang merupakan salah satu jenis karbohidrat. Karbohidrat tersebut berada dalam larutan gula yang

terkandung dalam air kelapa oleh *Acetobacter xylinum*. Kemudian glukosa tersebut digabung dengan asam lemak membentuk cairan nata pada membran selanjutnya cairan ini dikeluarkan bersama enzim yang akan mempolimerasikan glukosa menjadi selulosa di luar sel. Secara fisik nata bertekstur lembut dan berwarna putih.

Air kelapa yang digunakan untuk pembuatan nata de coco rata-rata mengandung gula sekitar 1,5% dan pH 4,2. Berdasarkan komposisi kimianya maka nata de coco termasuk dalam makanan penyegar atau pencuci mulut dan dikomposisikan dengan buah-buah lainnya. Nata de coco dikenal dimasyarakat saat ini adalah dibuat dari air kelapa yang kadar gulanya telah ditingkatkan dengan penambahan gula pasir 70 gr/l air kelapa, starter 165 ml (16,5%) dan asam asetat 20-22 ml.

### 3. Bakteri

Pembentukan nata de coco adalah oleh bakteri asam asetat yang disebut *Acetobacter xylinum*. Bakteri ini tergolong family pseudomonadaceae dan termasuk genus *Acetobacter*, panjang dua ujung biasanya terdapat sebagai sel tunggal. Bakteri ini membentuk asam dari glukosa, etil alkohol, propil alkohol, dan glikol. Mengoksidasi asam asetat menjadi karbondioksida dan air.

Dalam fermentasinya bakteri ini mengubah glukosa menjadi selulosa secara ekstraseluler sehingga terbentuk lapisan tebal, gelembung-gelembung udara yang terbentuk adalah akibat dari metabolisme berupa gas CO<sub>2</sub> mempunyai kecenderungan melekat pada jaringan selulosa, sehingga struktur permukaan menjadi naik dan hal ini ternyata membantu persediaan oksigen untuk mikroba. Nata de coco merupakan salah satu produk hasil olahan air kelapa dengan menggunakan proses fermentasi. Air kelapa yang digunakan alasannya adalah air kelapa yang sudah tua karena air kelapa ini dikategorikan sebagai limbah yang dibuang. Faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan nata de coco.

#### 1. Varietas kelapa

Air kelapa yang baik digunakan adalah air kelapa dari varietas kelapa ganyah, karena penggunaan air kelapa ini akan menghasilkan nata de coco yang lebih tebal bila dibandingkan dengan menggunakan air kelapa dari varietas kelapa hibrida.

#### 2. Temperatur 28-31°C

Temperatur merupakan faktor yang akan mengontrol kondisi lingkungan dari proses fermentasi dan temperatur yang digunakan pada fermentasi air kelapa ini adalah 28-31°C.

3. pH media

pH atau derajat keasaman yang digunakan juga merupakan parameter tetap untuk mengendalikan tingkat keasaman dari proses dan menjaga agar bakteri tetap dapat tumbuh dengan baik seperti *Acetobacter xylinum* menyukai pH yang lebih asam yaitu 4,5-5. Beberapa peneliti mengatakan pH yang optimum adalah pH 4. Sehingga diperlukan penambahan bahan yang digunakan untuk mendapatkan pH yang diinginkan, yang digunakan biasanya adalah asam asetat glacial.

4. Gula sebagai sumber karbon

Proses fermentasi dapat terjadi apabila mengandung cairan karbohidrat seperti jenis sukrosa, laktosa dan jenis lainnya yang didapatkan banyak dalam gula, merupakan sumber karbon yang digunakan sebagai nutrisi bagi pertumbuhan bakteri pada saat proses metabolisme dan juga sebagai sumber energi pada saat perombakan glukosa dan fruktosa menjadi selulosa.

5. Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen yang digunakan dapat berupa ammonium posfat, ammonium sulfat dan sumber nitrogen lainnya. Nitrogen ini juga merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan dari bakteri. Konsentrasi yang biasa digunakan adalah 0,3-0,7%.

### C. PEMBUATAN BIAKAN MURNI (STARTER) NATA DE COCO

Biakan murni untuk pembuatan nata de coco dibuat dengan dua cara, yaitu :

a. Cara I

Bahan dan alat yang diperlukan :

- Yeast ekstrak agar 0,25 gram
- $K_2HPO_4$  /  $KH_2PO_4$  0,50 / 0,39 gram
- $MgSO_4$  0,06 gram
- Gula pasir 10 gram
- Agar-agar 2 gram
- Air kelapa 100 ml
- Air bersih secukupnya
- Asam asetat secukupnya
- Biakan murni *Acetobacter*
- Autoklaf (dandang), botol

Langkah kerja :

1. Campurkan semua bahan (kecuali asam asetat dan biakan murni), lalu encerkan dengan air yang bersih.
2. Panaskan campuran tersebut agar cepat terlarut. •Setelah semua bahan-bahan larut, campuran (adonan) didinginkan kembali, lalu tambahkan asam cuka hingga pH-nya mencapai 4,5
3. Kemudian adonan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jika autoklaf tidak tersedia sterilisasi dilakukan dengan menggunakan dandang.
4. Dalam keadaan panas, masukkan adonan tersebut ke dalam botol atau tabung reaksi yang sebelumnya telah disterilkan. Kemudian didiamkan dalam posisi miring sampai beku. Adonan beku tersebut dinamakan media agar miring.
5. Selanjutnya, media agar miring tersebut diinokulasi dengan biakan murni *Acetobacter xylinum* dan simpan bahan tersebut dalam ruangan yang aman selama 5 hari. Bakteri akan tumbuh diatas permukaan media agar. Supaya biakan murni dapat bertahan, maka setiap sebulan sekali dipindahkan ke dalam media yeast ekstrak agar baru.

b. Cara II

Pembuatan biakan murni cara ini dilakukan apabila *Acetobacter xylinum* sukar diperoleh. Untuk memperoleh bakteri tersebut digunakan ampas nanas. Bahan dan alat yang diperlukan adalah : nanas, air dan gula secukupnya, sehingga diperoleh perbandingan ampas nanas, gula dan air sebesar 6 : 3 : 1, sedangkan alat yang digunakan adalah : pisau, parut, wadah botol jar dan kertas.

Langkah kerja :

1. Siapkan buah nanas yang matang, kupas dan cuci bersih.
2. Belah nanas tersebut dan potong kecil-kecil, lalu hancurkan dengan parut.
3. Peras hancuran nanas sampai sarinya habis Selanjutnya campur ampas nanas dengan air dan gula pasir dengan perbandingan 6 : 3 : 1
4. Aduk semua bahan hingga tercampur merata lalu masukkan ke dalam botol jar, kemudian botol ditutup kertas dan diperam selama 2-3 minggu, sampai terbentuk lapisan putih diatasnya. Lapisan itulah bakteri pembentuk nata.

#### **D. PROSES PEMBUATAN NATA DE COCO**

##### **a. Peralatan yang digunakan**

- Gelas kimia
- Saringan
- Karet gelang
- Spatula
- Autoklaf
- Panci
- Ember
- Kain kasa
- Kaca arloji
- Neraca analitik
- Kompor
- Loyang plastik agak datar

##### **b. Bahan yang digunakan**

- Air kelapa 4 liter
- Natrium benzoat
- Starter 1 liter (200 ml per loyang)
- Asam asetat glacial : 40 ml
- Gula pasir 20 gram
- Air bersih secukupnya
- Pupuk ZA 20 gram

#### **E. LANGKAH KERJA**

1. Menyiapkan air kelapa yang telah disaringkan dan bebas dari kotoran lainnya.  
34
2. Memanaskan air kelapa tersebut agar mikroba yang dapat mencemari mati.
3. Sementara memanaskan, ditambahkan gula sebanyak 7,5% dari jumlah air yang digunakan.
4. Setelah larutan dingin, menempatkan dalam gelas kimia yang telah disterilkan lalu menambahkan asam asetat sehingga keasaman larutan mencapai pH antara

- 4,5 - 5. Larutan yang diinokulasikan (dicampurkan) dengan cairan starter yang telah dibiakkan lalu difermentasikan selama 14 hari dalam ruangan yang tertutup rapat dan bersih.
5. Setelah terbentuk nata maka hasil direndam dalam air bersih untuk menghilangkan keasaman dan lebih setelah keasamannya hilang, dapat direndam dalam air gula untuk mendapatkan rasa manis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adini, A., & Hamdani, D. (2019). Proses pembuatan tempe tradisional. *Jurnal Pangan Halal*, 1, 9–12. Diakses 20 Februari 2022, dari <https://ojs.unida.ac.id>
- Barus, T., dkk. (2019). Kualitas tempe menggunakan *Rhizopus delemar* TB 26 dan *R. delemar* TB 37 yang diisolasi dari inokulum tradisional tempe daun waru. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 4, 143–148. Diakses 20 Februari 2022, dari <https://ejournal2.undip.ac.id>
- Darmawati, I. A., Sutrisno, D. A., & Assalam, S. D. (2019). Pengaruh pH dan konsentrasi Tween 80 terhadap karakteristik serbuk pewarna alami bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Diakses 18 Februari 2022, dari <http://repository.unpas.ac.id/43136/>
- Haryono, N. E., & Andaka, G. (2017). Pembuatan tempe dari biji mangga sebagai makanan sehat berprotein (variabel berat ragi dan waktu fermentasi). *Jurnal Inovasi Proses*, 2, 38–42. Diakses 20 Februari 2022, dari <https://ejournal.akprind.ac.id>
- Hema'la, D. (2019). Pemanfaatan pigmen bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai pewarna alami kaya antioksidan dalam pembuatan *crackers* dengan penambahan *puree* umbi bit. Diakses 18 Februari 2022, dari <https://media.neliti.com/media/publications/142784-ID-none.pdf>
- Herdiana, A. (2013). *Pembuatan virgin coconut oil*. Diakses 20 Februari 2022, dari [https://www.academia.edu/8539549/PEMBUATAN\\_VIRGIN\\_COCONUT\\_OIL](https://www.academia.edu/8539549/PEMBUATAN_VIRGIN_COCONUT_OIL)
- Nareswary, O. P., & Andaka, G. (2017). Pembuatan tempe dari biji nangka sebagai makanan sehat berprotein. *Jurnal Inovasi Proses*, 2, 74–77. Diakses 20 Februari 2022, dari <https://ejournal.akprind.ac.id>
- Prasetyani, W., Fadhillah, R., Angkas, D., Ronitawat, P., & Melani, V. (2020). Analisis nilai gizi dan daya terima es krim sari kedelai dan tepung ampas kelapa dengan pewarna alami bunga telang sebagai makanan selingan anak usia sekolah. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 10(2), 12–32.
- Sofiah, Aswan, A., Yunanto, I., Ramayanti, C., Amelia, P. D., & Utami, A. N. (2021). *Making herbal tea from a mixture of butterfly pea flower (Clitoria ternatea) and ginger powder (Zingiber officinale) using drying method according to Indonesian national standards (SNI). Proceeding FISRT 5th 2021, Department of Chemical Engineering, Politeknik Negeri Sriwijaya.*
- Suknia, L. S. (2020). Proses pembuatan tempe *home industry* berbahan dasar kedelai (*Glycine max* (L) Merr) dan kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) di Candiwesi, Salatiga. *Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo*, 3, 59–76. Diakses 20 Februari 2022, dari <https://journal.uinsi.ac.id>
- Herdiana, A. (2013). *Pembuatan virgin coconut oil*. Diakses 20 Februari 2022, dari [https://www.academia.edu/8539549/PEMBUATAN\\_VIRGIN\\_COCONUT\\_OIL](https://www.academia.edu/8539549/PEMBUATAN_VIRGIN_COCONUT_OIL)

## BIODATA PENULIS



Nama : Ir. Sofiah, S.T., M.T.  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
NIP 19620627198903200  
NIDN 0027066207  
Tempat dan Tanggal Lahir : Kayuagung, 27 Juni 1962  
No. Telepon/HP : 082176316932 / 081927696399  
E-mail : sofiahzainal\_sofie@yahoo.com  
Alamat Kantor : Jalan Sriwijaya Negara Bukit Besar

Riwayat Pendidikan :

1. S-1 Teknik Kimia, Universitas Sriwijaya (1981-1987)
2. S-2 Teknik Kimia, Universitas Sriwijaya (2008-2010)

Mata Kuliah yang Diampu :

1. Sistem Utilitas.
2. Etika Profesi.
3. Kesehatan dan Keselamatan Kerja.
4. Praktikum Mikrobiologi.
5. Technopreneur dan Ekonomi Teknik.
6. Technopreneur



## **BIODATA PENULIS**

Nama : Ir. Siti Chodijah, M.T.  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala/IV.c  
NIP 196212281989032005  
NIDN 0028126206  
Tempat dan Tanggal Lahir : Kayuagung, 28 Desember 1962  
No. Telepon/HP 08127152739  
E-mail : chodijahsiti63@yahoo.com  
Alamat Kantor : Jalan Sriwijaya Negara Bukit Besar Palembang

Riwayat Pendidikan :

1. S-1 Universitas Sriwijaya (1988)
2. S-2 Universitas Sriwijaya (2006)

Mata Kuliah yang Diampu :

1. Pengendalian Mutu Produksi
2. Kewirausahaan
3. Teknologi Pengolahan Pangan

## BIODATA PENULIS

Nama : Ir. Jaksen, M.Si.  
Jenis Kelamin : Laki - Laki  
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
NIP 196209041990031002  
NIDN 0004096205  
Tempat dan Tanggal Lahir : Penyandingan – OKI, 04 September 1962  
No. Telepon/HP 0895604207176  
E-mail : jaksen@polsri.ac.id  
Alamat Kantor : Jalan Sriwijaya Negara Bukit Besar Palembang

Riwayat Pendidikan :

1. S-1 Universitas Sriwijaya (1988)
2. S-2 Universitas Sriwijaya (1999)

Mata Kuliah yang Diampu :

1. Teknologi Bioproses
2. Pengendalian Mutu Produksi
3. Peralatan Industri Proses/Alat Industri Kimia
4. Kewirausahaan / Teknopreneur
5. Teknik Penulisan Ilmiah / Metodologi Penelitian
6. Praktikum Satuan Proses
7. Praktikum Operasi Teknik Kimia






# POLITEKNIK NEGERI SRIWIJAYA

JURUSAN: TEKNIK KIMIA

PROGRAM STUDI: D-III TEKNIK KIMIA

Kode Dokumen

## RENCANA PEMBELAJARAN SEMESTER

MATA KULIAH (MK)	KODE	Rumpun MK	BOBOT (sks)		SEMESTER	Tgl Penyusunan
Praktikum Teknologi Bioproses	TK252103	Mata Kuliah Keterampilan Umum	T=0	P=2	1	1 September 2025
OTORISASI/ PENGESAHAN	Kalab Rekayasa Proses		Koordinator RMK			Ka PRODI
	 Idha Silviyati, S.T., M.T.		 Ir. Jaksen M. Amin, M.Si.			 Apri Mujiyanti, S.T, M.T.
Capaian Pembelajaran	CPL-PRODI yang Dibebankan pada MK					
	CPL1	Menunjukkan sikap tanggung jawab, jujur, disiplin dan berkepribadian religius serta menjunjung tinggi etika profesi.				
	CPL2	Mampu menerapkan ilmu matematika, sains, prinsip rekayasa dan teknologi informasi untuk menyelesaikan masalah teknik kimia.				
	CPL3	Mampu mengoperasikan peralatan instrumen dan proses dalam bidang Teknik Kimia secara sistematis dan menerapkan standar keselamatan kerja.				
	CPL5	Mampu menghasilkan solusi, gagasan, desain dan komunikasi efektif yang memperhatikan nilai sains, rekayasa yang sesuai dengan bidang teknik kimia.				
	CPL6	Mampu melakukan eksperimen dan menganalisis data proses sesuai standar yang berlaku				
	CP-MK					
	CPMK1	Mahasiswa mampu menjelaskan dan menerapkan peraturan keselamatan kerja, tata tertib, serta prosedur umum di laboratorium untuk mencegah kecelakaan dan menjaga kualitas hasil eksperimen. [CPL1; CPL3]				
	CPMK2	Mahasiswa mampu melakukan sterilisasi alat dan media cair menggunakan autoklaf sesuai prosedur laboratorium dan menguji keberhasilan proses sterilisasi dan menentukan kondisi steril/tidak steril suatu alat [CPL2; CPL3;CPL5]				

CPMK3	Mahasiswa mampu membuat berbagai jenis media pertumbuhan mikroorganisme sesuai kebutuhan kultur dan menerapkan teknik aseptik dan melakukan pembiakan mikroorganisme pada media agar padat dan miring serta mampu melakukan isolasi dan seleksi mikroorganisme hingga diperoleh koloni terpilih [CPL2; CPL3;CPL5]
CPMK4	Mahasiswa mampu mengoperasikan mikroskop untuk mengamati serat, amilum, dan mikroorganisme dari berbagai sampe dan mampu membedakan sel hidup dan mati pada ragi serta menghitung persentase sel hidup dalam suspensi serta menghitung konsentrasi sel menggunakan ruang hitung (counting chamber) [CPL2; CPL3;CPL5]
CPMK5	Mahasiswa mampu melakukan proses fermentasi kedelai menjadi tempe berwarna dengan mengendalikan bahan, kondisi operasi, serta mengevaluasi kualitas produk [CPL2; CPL5;CPL6]
CPMK6	Mahasiswa mampu memproduksi minyak kelapa murni (VCO) melalui fermentasi dan menganalisis hasilnya [CPL2; CPL5;CPL6]
CPMK7	Mahasiswa mampu membuat yoghurt kedelai menggunakan starter <i>Lactobacillus casei</i> dan mengevaluasi mutu produk [CPL2; CPL5;CPL6]
CPMK8	Mahasiswa mampu melakukan fermentasi buah (pisang/nanas) menjadi alkohol, mengatur kondisi operasi, dan menganalisis produknya [CPL2; CPL5;CPL6]
CPMK9	Mahasiswa mampu menghasilkan kombucha dari berbagai bahan melalui fermentasi dan menjelaskan prinsip prosesnya [CPL2; CPL5;CPL6]
CPMK10	Mahasiswa mampu menghasilkan asam asetat melalui fermentasi aerob dengan inokulum starter serta menganalisis volume, densitas, dan kadar produk [CPL2; CPL5;CPL6]
<b>Kemampuan akhir tiap tahapan belajar (Sub-CPMK)</b>	
Sub-CPMK1	Mahasiswa mampu memahami dan menjelaskan peraturan keselamatan kerja, tata tertib, serta prosedur umum di laboratorium Teknologi Bioproses, serta mampu mengidentifikasi fungsi alat dan perlengkapan dasar laboratorium sebagai bekal untuk melaksanakan praktikum dengan aman dan sesuai standar.
Sub-CPMK2	Mahasiswa mampu menjelaskan sterilisasi alat dan media cair menggunakan autoklaf sesuai prosedur laboratorium dan menguji keberhasilan proses sterilisasi dan menentukan kondisi steril/tidak steril suatu alat
Sub-CPMK3	Mahasiswa mampu menjelaskan berbagai jenis media pertumbuhan mikroorganisme sesuai kebutuhan kultur dan menjelaskan teknik aseptik dalam melakukan pembiakan mikroorganisme pada media agar padat dan miring serta mampu menjelaskan isolasi dan seleksi mikroorganisme hingga diperoleh koloni terpilih
Sub-CPMK4	Mahasiswa mampu menjelaskan pengoperasian mikroskop untuk mengamati serat, amilum, dan mikroorganisme dari berbagai sampe dan mampu menjelaskan perbedaan sel hidup dan mati pada ragi serta menjelaskan perhitungan persentase sel hidup dalam suspensi serta menjelaskan perhitungan konsentrasi sel menggunakan ruang hitung (counting chamber)
Sub-CPMK5	Mahasiswa mampu menjelaskan proses fermentasi kedelai menjadi tempe berwarna dengan mengendalikan bahan, kondisi operasi, serta menjelaskan kualitas produk tempe.
Sub-CPMK6	Mahasiswa mampu menjelaskan metode produksi minyak kelapa murni (VCO) melalui fermentasi dan menjelaskan hasil yang didapat.

	Sub-CPMK7	Mahasiswa mampu menjelaskan pembuatan yoghurt kedelai menggunakan starter <i>Lactobacillus casei</i> dan menjelaskan evaluasi mutu produk.
	Sub-CPMK8	Mahasiswa mampu menjelaskan pembuatan fermentasi buah (pisang/nanas) menjadi alkohol, mengatur kondisi operasi, dan menganalisis produk yang dihasilkan.
	Sub-CPMK9	Mahasiswa mampu menjelaskan pembuatan kombucha dari berbagai bahan melalui fermentasi dan menjelaskan prinsip prosesnya.
	Sub-CPMK10	Mahasiswa mampu menjelaskan pembuatan asam asetat melalui fermentasi aerob dengan inokulum starter serta menganalisis volume, densitas, dan kadar produk.

Korelasi CPMK terhadap Sub-CPMK										
	Sub-CPMK1	Sub-CPMK2	Sub-CPMK3	Sub-CPMK4	Sub-CPMK5	Sub-CPMK6	Sub-CPMK7	Sub-CPMK8	Sub-CPMK9	Sub-CPMK10
CPMK1	V									
CPMK2	V	V								
CPMK3	V	V	V							
CPMK4	V	V	V	V						
CPMK5	V	V	V	V	V					
CPMK6	V	V	V	V	V	V				
CPMK7	V	V	V	V	V	V	V			
CPMK8	V	V	V	V	V	V	V	V		
CPMK9	V	V	V	V	V	V	V	V	V	
CPMK10	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V

<b>Deskripsi Singkat Mata Kuliah</b>	Mata kuliah Praktikum Teknologi Bioproses membahas teknik dasar yang digunakan dalam kegiatan laboratorium bioproses, meliputi sterilisasi, pembuatan media, pembiakan, isolasi, serta pengamatan mikroorganisme. Selain itu, praktikum juga mencakup penerapan proses fermentasi untuk menghasilkan produk bioteknologi seperti tempe, minyak kelapa murni (VCO), yoghurt kedelai, alkohol, kombucha, dan asam asetat. Melalui mata kuliah ini, mahasiswa dibekali kemampuan untuk memahami prinsip dasar bioproses, mengoperasikan peralatan laboratorium, menerapkan prosedur sesuai standar keselamatan kerja, serta melakukan analisis dan evaluasi mutu produk bioproses.	
<b>Bahan Kajian:</b> Materi pembelajaran	1	Sterilisasi
	2	Sterilisasi II (Uji Sterilisasi)

	3	Pembuatan Media
	4	Pembiakan Mikroorganisme dalam Media Agar
	5	Isolasi dan Seleksi Mikroorganisme
	6	Mengamati Objek Melalui Mikroskop
	7	Penetapan Jumlah Sel Hidup dan Mati Dalam Ragi Kering ( <i>Dried Yeast</i> )
	8	Penetapan Jumlah Sel dengan Menggunakan Ruang Hitung ( <i>Counting Chamber</i> )
	9	Fermentasi Tempe Kedelai Berwarna I
	10	Fermentasi Tempe Kedelai Berwarna II
	11	Pembuatan Minyak Kelapa secara Fermentasi (VCO)
	12	Pembuatan Yoghurt Kedelai
	13	Pembuatan Alkohol (Pisang/Nanas)
	14	Pembuatan Kombucha
	15	Pembuatan Asam Asetat
Pustaka	Utama:	
	1	Modul Praktikum Teknologi Bioproses. (2025). Politeknik Negeri Sriwijaya. Palembang.
	2	Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2008). <i>Dasar-Dasar Mikrobiologi</i> (Jilid 1 & 2). Jakarta: UI Press.
	3	Stanbury, P. F., Whitaker, A., & Hall, S. J. (2017). <i>Principles of Fermentation Technology</i> (3rd ed.). Oxford: Elsevier.
	4	Dwidjoseputro, D. (2005). <i>Dasar-Dasar Mikrobiologi</i> . Jakarta: Djambatan.
	5	Bailey, J. E., & Ollis, D. F. (1986). <i>Biochemical Engineering Fundamentals</i> (2nd ed.). New York: McGraw-Hill.
	Pendukung:	
	1	Shuler, M. L., & Kargi, F. (2017). <i>Bioprocess Engineering: Basic Concepts</i> (3rd ed.). Boston: Pearson.
	2	Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2008). <i>Microbiology</i> (7th ed.). New York: McGraw-Hill.
	3	Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). <i>Brock Biology of Microorganisms</i> (15th ed.). New York: Pearson.
	4	Fardiaz, S. (1992). <i>Mikrobiologi Pangan</i> . Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
	5	Waluyo, L. (2019). <i>Mikrobiologi Umum</i> . Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.

Media Pembelajaran	<b>Perangkat Lunak</b> Microsoft Office:	<b>Perangkat Keras:</b> Autoklaf, oven, mikroskop cahaya, laminar air flow, inkubator, fermentor skala laboratorium, ruang hitung ( <i>counting chamber</i> ), timbangan analitik, hot plate dengan magnetic stirrer, serta peralatan gelas laboratorium (tabung reaksi, erlenmeyer, pipet, petri dish, gelas ukur, buret).
Tim Teaching	<b>Ir. Sofiah, M.T.</b> <b>Ir. Jaksen M. Amin, M.Si.</b> <b>Hilwatulisan, S.T., M.T.</b> <b>Firdaus</b>	
Mata Kuliah Syarat	Teknologi Bio Proses	

Mg ke-	Sub-CP-MK	Indikator	Kinerja & Bentuk Penilaian	Metode Pembelajaran [Estimasi Waktu]	Materi Pembelajaran [Pustaka]	Bobot Penilaian (%)
	(sgb kemampuan akhir yg diharapkan)					
1	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami sistem pembelajaran praktikum Teknologi Bioproses di laboratorium.</li> <li>Mahasiswa mampu mengenali fungsi alat, bahan, dan fasilitas dasar yang digunakan dalam praktikum bioproses.</li> <li>Mahasiswa mampu menerapkan prosedur keselamatan dasar saat melakukan kegiatan praktikum bioproses</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan tata cara dan alur kegiatan praktikum Teknologi Bioproses di laboratorium.</li> <li>Dapat mengenali bentuk, fungsi, dan cara penggunaan alat dasar laboratorium bioproses.</li> <li>Dapat menunjukkan penerapan prosedur keselamatan dasar dalam kegiatan praktikum bioproses.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait sistem pembelajaran di laboratorium bioproses.</li> <li>Ketepatan menjelaskan fungsi alat dan bahan dasar praktikum bioproses.</li> <li>Ketepatan mendemonstrasikan penggunaan alat dasar serta penerapan prosedur keselamatan dalam praktikum bioproses.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Orientasi praktikum & keselamatan kerja di laboratorium bioproses	5

2	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip dasar sterilisasi dalam bioproses.</li> <li>Mahasiswa mampu melakukan sterilisasi alat dan media cair menggunakan autoklaf sesuai prosedur laboratorium.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan tujuan dan prinsip dasar sterilisasi pada laboratorium bioproses.</li> <li>Dapat menyiapkan alat dan media untuk proses sterilisasi.</li> <li>Dapat mengoperasikan autoklaf dengan prosedur yang benar.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip dan tujuan sterilisasi.</li> <li>Ketepatan menyiapkan alat/media sebelum sterilisasi.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Sterilisasi I	5
3	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip uji keberhasilan proses sterilisasi.</li> <li>Mahasiswa mampu melakukan pengujian sterilisasi media menggunakan indikator biologi maupun indikator kimia.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan prinsip uji keberhasilan sterilisasi.</li> <li>Dapat menyiapkan media untuk uji sterilisasi.</li> <li>Dapat melakukan uji sterilisasi sesuai prosedur.</li> <li>Dapat menganalisis hasil uji sterilisasi.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip uji sterilisasi.</li> <li>Ketepatan melakukan prosedur uji sterilisasi.</li> <li>Ketepatan menginterpretasikan hasil uji.</li> <li>Penilaian melalui responsi + laporan praktikum</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Sterilisasi II (Uji Sterilisasi)	5



4	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip dasar pembuatan media pertumbuhan mikroorganisme.</li> <li>Mahasiswa mampu menimbang, mencampur, dan menyiapkan media sesuai prosedur laboratorium bioproses.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan komponen utama penyusun media.</li> <li>Dapat menyiapkan larutan media dengan komposisi yang tepat.</li> <li>Dapat melakukan proses sterilisasi media yang telah dibuat.</li> <li>Dapat menjelaskan alasan pemilihan jenis media tertentu untuk bioproses.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip pembuatan media.</li> <li>Ketepatan menimbang dan mencampur bahan media.</li> <li>Ketepatan melakukan sterilisasi media.</li> <li>Penilaian melalui responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Pembuatan Media	5
5	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip pembiakan mikroorganisme pada media padat (agar).</li> <li>Mahasiswa mampu melakukan teknik aseptis dalam pembiakan mikroorganisme.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan fungsi media agar dalam pembiakan mikroorganisme.</li> <li>Dapat menyiapkan media agar untuk inokulasi.</li> <li>Dapat melakukan inokulasi mikroorganisme pada media agar dengan teknik aseptis.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait pembiakan mikroorganisme.</li> <li>Ketepatan menyiapkan dan menggunakan media agar.</li> <li>Ketepatan melakukan inokulasi dengan teknik aseptis.</li> <li>Penilaian melalui responsi dan laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Pembiakan Mikroorganisme dalam Media Agar	5
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip isolasi dan seleksi mikroorganisme.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan perbedaan isolasi dan seleksi mikroorganisme.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip isolasi dan seleksi.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Isolasi dan Seleksi Mikroorganisme	5

	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu melakukan isolasi mikroorganisme dari lingkungan atau sampel tertentu.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menyiapkan media dan alat untuk isolasi.</li> <li>Dapat melakukan isolasi mikroorganisme dengan teknik yang sesuai.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan melakukan prosedur isolasi.</li> <li>Ketepatan memilih koloni yang sesuai hasil seleksi.</li> <li>Penilaian melalui responsi dan laporan praktikum.</li> </ul>			
7	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip kerja mikroskop cahaya.</li> <li>Mahasiswa mampu menggunakan mikroskop untuk mengamati sel mikroorganisme.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan bagian dan fungsi mikroskop.</li> <li>Dapat menyiapkan preparat sederhana untuk diamati.</li> <li>Dapat menggunakan mikroskop dengan benar.</li> <li>Dapat menggambar/mendokumentasikan hasil pengamatan.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip kerja mikroskop.</li> <li>Ketepatan dalam menyiapkan preparat.</li> <li>Ketepatan penggunaan mikroskop untuk observasi.</li> <li>Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Mengamati Objek Melalui Mikroskop	5
8	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip pewarnaan diferensial untuk membedakan sel hidup dan mati.</li> <li>Mahasiswa mampu menghitung persentase sel hidup dan mati pada ragi kering.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan prinsip dasar pewarnaan sel hidup dan mati.</li> <li>Dapat menyiapkan suspensi sel ragi kering untuk pengamatan.</li> <li>Dapat melakukan pewarnaan dan menghitung jumlah</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip pewarnaan diferensial.</li> <li>Ketepatan menyiapkan sampel ragi.</li> <li>Ketepatan menghitung sel hidup dan mati.</li> <li>Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Penetapan Jumlah Sel Hidup dan Mati dalam Ragi Kering	5

		sel hidup/mati.				
9	<b>Ujian Tengah Semester (UTS)</b>					<b>10</b>
10	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip perhitungan sel menggunakan haemocytometer (ruang hitung).</li> <li>Mahasiswa mampu menghitung jumlah sel mikroorganisme dengan metode ruang hitung.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan prinsip perhitungan sel dengan ruang hitung.</li> <li>Dapat menyiapkan sampel mikroorganisme untuk perhitungan.</li> <li>Dapat menghitung jumlah sel menggunakan ruang hitung.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip ruang hitung.</li> <li>Ketepatan menyiapkan sampel.</li> <li>Ketepatan menghitung jumlah sel dengan ruang hitung.</li> <li>Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Kenetapan Jumlah Sel dengan Menggunakan Ruang Hitung	<b>5</b>
11, 12	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip dasar fermentasi tempe menggunakan kapang.</li> <li>Mahasiswa mampu melakukan proses persiapan bahan, inokulasi, serta pengamatan hasil fermentasi tempe kedelai berwarna.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan prinsip fermentasi tempe.</li> <li>Dapat menyiapkan kedelai sebagai substrat fermentasi.</li> <li>Dapat melakukan inokulasi kapang pada kedelai.</li> <li>Dapat mengamati dan mengevaluasi hasil fermentasi tempe kedelai berwarna.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait fermentasi tempe.</li> <li>Ketepatan menyiapkan bahan dan melakukan inokulasi.</li> <li>Ketepatan mengamati pertumbuhan kapang pada kedelai.</li> <li>Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2(2×170")]	Fermentasi Tempe Kedelai Berwarna (I & II)	<b>10</b>
13	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO) dengan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan prinsip dasar fermentasi dalam pembuatan VCO.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait fermentasi VCO.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Pembuatan Minyak Kelapa secara Fermentasi (VCO)	<b>5</b>

	<p>metode fermentasi.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa mampu melakukan proses fermentasi untuk menghasilkan VCO.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dapat menyiapkan bahan dan inokulum untuk fermentasi VCO.</li> <li>• Dapat melakukan proses fermentasi kelapa untuk menghasilkan VCO.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan menyiapkan dan memproses bahan fermentasi.</li> <li>• Ketepatan menghasilkan VCO sesuai prosedur.</li> <li>• Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>			
14	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 7 Mahasiswa mampu memahami prinsip fermentasi asam laktat pada pembuatan yoghurt kedelai.</li> <li>• Mahasiswa mampu melakukan fermentasi kedelai menggunakan kultur bakteri asam laktat.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dapat menjelaskan prinsip dasar pembuatan yoghurt kedelai.</li> <li>• Dapat menyiapkan kedelai dan kultur bakteri asam laktat.</li> <li>• Dapat melakukan fermentasi kedelai menjadi yoghurt.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan menjawab pertanyaan terkait fermentasi yoghurt.</li> <li>• Ketepatan menyiapkan bahan dan kultur starter.</li> <li>• Ketepatan menghasilkan yoghurt kedelai sesuai prosedur.</li> <li>• Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Pembuatan Yoghurt Kedelai	5
15	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mahasiswa mampu memahami prinsip fermentasi etanol menggunakan bahan berpati/gula.</li> <li>• Mahasiswa mampu melakukan proses fermentasi buah (pisang/nanas) menjadi alkohol.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dapat menjelaskan prinsip fermentasi alkohol.</li> <li>• Dapat menyiapkan buah sebagai substrat fermentasi.</li> <li>• Dapat melakukan fermentasi hingga menghasilkan alkohol.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ketepatan menjawab pertanyaan terkait fermentasi alkohol.</li> <li>• Ketepatan menyiapkan substrat buah.</li> <li>• Ketepatan melakukan fermentasi dan mengamati hasilnya.</li> <li>• Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Pembuatan Alkohol (Pisang/Nanas)	5

16	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip fermentasi kombucha.</li> <li>Mahasiswa mampu melakukan proses fermentasi teh manis menjadi kombucha.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan prinsip dasar fermentasi kombucha.</li> <li>Dapat menyiapkan substrat (teh manis) dan kultur starter kombucha.</li> <li>Dapat melakukan fermentasi kombucha sesuai prosedur.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait fermentasi kombucha.</li> <li>Ketepatan menyiapkan dan melakukan proses fermentasi kombucha.</li> <li>Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Pembuatan Kombucha	5
17	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mahasiswa mampu memahami prinsip fermentasi asam asetat.</li> <li>Mahasiswa mampu melakukan proses fermentasi etanol menjadi asam asetat.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dapat menjelaskan prinsip fermentasi asam asetat.</li> <li>Dapat menyiapkan substrat fermentasi (etanol).</li> <li>Dapat melakukan fermentasi menghasilkan asam asetat sesuai prosedur.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ketepatan menjawab pertanyaan terkait prinsip fermentasi asam asetat.</li> <li>Ketepatan menyiapkan dan melakukan proses fermentasi.</li> <li>Ketepatan mengevaluasi hasil fermentasi asam asetat.</li> <li>Penilaian: responsi + laporan praktikum.</li> </ul>	Responsi, pengarahan, dan praktikum laboratorium [TM: 2×170"]	Pembuatan Asam Asetat	5
18	<b>EVALUASI</b>					
19	<b>UJIAN AKHIR SEMESTER (UAS)</b>					<b>10</b>
20	<b>MAINTENANCE</b>					

---

Catatan :

- (1) TM: Tatap Muka, BT: Belajar Terstruktur, BM: Belajar Mandiri;
- (2) **[TM: 2x(2x50'')]** dibaca: kuliah tatap muka 2 kali (minggu) x 2 sks x 50 menit = 200 menit (3,33 jam);
- (3) **[BT + BM: (2+2)x(2x60'')]** dibaca: belajar terstruktur 2 kali (minggu) dan belajar mandiri 2 kali (minggu) x 2 sks x 60 menit = 480 menit (8 jam);
- (4) Mahasiswa mampu merancang penelitian dalam bentuk proposal penelitian & mempresentasikannya [C6, A2, P2]: menunjukkan bahwa Sub-CPMK ini mengandung kemampuan dalam ranah taksonomi kognitif level 2 (kemampuan merancang), afeksi level 2 (kemampuan merespon dalam diskusi), dan psikomotorik level 2 (memanipulasi gerakan tubuh dalam keterampilan presentasi).
- (5) Penulisan daftar Pustaka disarankan menggunakan salah satu standar/ style penulisan pustaka internasional, dalam contoh ini menggunakan style APA;

**sumber:** Panduan Penyusunan Kurikulum Pendidikan Tinggi di Era Industri 4.0 untuk Mendukung Merdeka Belajar – Kampus Merdeka – Ditjen Dikti – Kemdikbudristek)



**polsri**  
Politeknik Negeri Sriwijaya

**JURUSAN TEKNIK KIMIA PROGRAM  
STUDI D-III TEKNIK KIMIA POLITEKNIK  
NEGERI SRIWIJAYA**