

**Bioproses Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L) D.C) oleh *Rhizopus oligosporus* terhadap Peningkatan Protein Murni dan Penurunan Asam Sianida**  
**(*Bioprocess of Winged Bean Seeds (*Psophocarpus tetragonolobus* (L) DC) BY *Rhizopus oligosporus* to Improved Of Pure Protein Content And Decreased Of Cyanide*)**

**Tjitjah Aisjah, dan Abun**

Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran

E-mail : abun\_hasbuna.fapet@yahoo.co.id

**Abstrak**

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas, Non Ruminansia dan Industri Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Jatinangor Sumedang. Tujuan penelitian untuk mendapatkan dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* dan waktu fermentasi biji kecipir yang optimum terhadap peningkatan kandungan protein murni dan penurunan asam sianida. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang (3x3). Perlakuan terdiri atas faktor A, yaitu dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* (d1=0,1% b/b, d2=0,2% b/b, dan d3=0,3% b/b) dan faktor B yaitu waktu fermentasi (w1=24 jam, w2= 48 jam, dan w3=72 jam). Faktor B (waktu) tersarang pada faktor A (dosis), masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Peubah yang diamati adalah kenaikan kandungan protein murni dan penurunan asam sianida. Hasil penelitian diperoleh bahwa dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* sebesar 0,2% (b/b) dan waktu fermentasi 48 jam, merupakan dosis dan waktu optimal yang menghasilkan peningkatan kandungan protein murni tertinggi, yaitu sebesar 46,90% (dari 15,70% menjadi 23,06%). Adapun penurunan kandungan asam sianida tertinggi diperoleh pada dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* sebesar 0,3% (b/b) dengan waktu fermentasi 72 jam, yaitu sebesar 97,29% (dari 45,48 mg/kg menjadi 1,23 mg/kg).

**Kata Kunci : Bioproses, biji kecipir, *Rhizopus oligosporus*, protein murni, sianida.**

**Abstract**

The research had been conducted on Poultry Nutrition, Non-Ruminant and Feed Industry laboratoriy Padjadjaran University Faculty of Animal Husbandry, Jatinangor Sumedang. The research objective was to get a dose of *Rhizopus oligosporus* inoculum and the time of fermentation winged seeds which optimal to increase the pure protein content and a decrease in cyanide. The study was conducted with an experimental method using a Completely Randomized Design (CRD) nested pattern (3x3). The treatment consists of factor A, which is dose *Rhizopus oligosporus* (d1 = 0.1%, d2 and d3 = 0.2% = 0.3%) and factor B is the time of fermentation (w1 = 24 hours, w2 = 48 hours, and w3 = 72 hours). Factor B (time) nested in factor A (dose), each treatment was repeated three times. Observed variable is the increase in pure protein, and decreased cyanide. The study found that *Rhizopus oligosporus* inoculum at dose of 0.2% and the fermentation time of 48 hours, were the optimal dose and timing that produces the highest increase in pure protein, to 46.90% (from 15.70% to 23.06%) . The reduction in cyanide content obtained at the highest dose of *Rhizopus oligosporus* inoculum of 0.3% with a fermentation time of 72 hours, g to 97.29% (from 45.48 mg / kg to 1.23 mg / kg).

**Keywords: Bioprocess, winged seeds, *Rhizopus oligosporus*, pure protein, cyanide.**

**Pendahuluan**

Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L) D.C) merupakan tanaman kacang-kacangan yang dapat tumbuh di daerah tropis dan bijinya mengandung protein yang cukup tinggi. Sejauh ini biji kecipir belum banyak dimanfaatkan sebagai bahan penyusun ransum unggas. Produksi rata-rata

biji kecipir di Indonesia adalah 4500 kg/hektar (Samosir, 1985; Rukmana, 2000).

Hasil analisis Laboratorium Nutrisi Ternak Ruminansia dan Kimia Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran (2011) menunjukkan bahwa komposisi zat-zat makanan yang terkandung dalam biji kecipir yaitu : 35,42% protein kasar, 8,08% serat kasar, 10,51% lemak

kasar, 2,97% abu, dan 4824 kkal/kg energi bruto. Biji kecipir memiliki kandungan protein murni sebesar 15,70% (Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Pasundan, 2011). Selain itu, biji kecipir mengandung sejumlah asam amino esensial yang hampir sama dengan yang terdapat pada kacang kedelai, bahkan sebagian diantaranya memiliki jumlah yang lebih besar daripada kacang kedelai. Oleh karena itu, biji kecipir dapat dijadikan pengganti atau pendamping kacang kedelai sebagai sumber protein nabati dan asam amino esensial apabila dilakukan pengolahan terlebih dahulu (Yuwanto dkk., 1981). Bahan pakan yang mempunyai kandungan protein lebih dari 20% termasuk bahan pakan sumber protein (Anggorodi, 1994; Wahju, 1997). Selain mengandung nutrisi yang cukup tinggi, biji kecipir juga mengandung asam sianida (HCN) yang bersifat racun dan dapat menghambat pertumbuhan unggas (Scott dkk., 1982). Hal tersebut menyebabkan keberadaan bahan pakan ini tidak bersaing dengan kebutuhan manusia karena jika dikonsumsi berlebihan tanpa pengolahan yang tepat akan menyebabkan keracunan.

Dosis letal HCN untuk ternak adalah sebagai berikut: sapi 2 mg/kg bobot badan, domba 2,3 mg/kg bobot badan, babi 2,25 mg/ekor/hari, dan ayam 0,4 mg/ekor/hari (Ong dan Yeong, 1977). Kandungan HCN biji kecipir sebesar 45,48 mg/kg (Laboratorium Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan, 2011). Angka tersebut memperlihatkan bahwa kandungan HCN biji kecipir cukup tinggi, dan apabila diberikan langsung pada ternak tanpa diolah terlebih dahulu dapat menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat, diare, abnormalitas pada persendian kaki unggas (Scott dkk., 1982; Rasyaf, 2005).

Detoksifikasi HCN terjadi di jaringan proventriculus, hati, ginjal, dan kelenjar tiroid, karena jaringan tersebut mempunyai enzim *rhodanase* yang berperan dalam mengubah sianida menjadi tiosianat yang dikeluarkan melalui urin (Agustiningsih, 2002). Asam sianida dapat mengganggu ketersediaan yodium yang dibutuhkan dalam pembentukan hormon tiroid (Purawisastra dan Affandi 1998). Penurunan kadar yodium dapat diakibatkan oleh proses detoksifikasi HCN dalam menghasilkan tiosianat yang bersifat *goitrogenik* sehingga mengganggu metabolisme protein. Penurunan hormon tiroid menyebabkan metabolisme protein terganggu, akibatnya pembentukan jaringan terganggu dan pertumbuhan terhambat (Tillman dkk., 1991).

Semakin singkat waktu inkubasi semakin sedikit kesempatan inokulum untuk tumbuh dan

Upaya yang dilakukan untuk meningkatkan kualitas zat-zat makanan dan menurunkan kandungan HCN dalam biji kecipir, diantaranya dengan pengolahan secara mikrobiologis melalui proses fermentasi. Proses fermentasi merupakan aktivitas mikroorganisme yang dapat menghasilkan produk dengan karakteristik tekstur, flavor, aroma dan perubahan kualitas nutrisi yang lebih baik dibandingkan bahan baku asalnya, dan merupakan proses *protein enrichment* yaitu pengkayaan protein dari bahan tersebut (Simanjuntak 1998; Gushairiyanto 2004). Beberapa kapang yang sering digunakan dalam bioproses antara lain *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma reesei*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus oligosporus* dan *Neurospora sitophila* (Fardiaz, 1989; Hardjo dkk., 1989).

Pada saat fermentasi sebagian protein dan lemak dihidrolisa menjadi asam-asam amino dan asam-asam lemak oleh enzim yang dihasilkan kapang *Rhizopus oligosporus* sehingga gizi tersebut mudah dicerna dan diserap oleh tubuh (Aisjah, 1995; Haslina dan Pratiwi, 1996). Protein diuraikan oleh enzim proteolitik menjadi asam amino sehingga N terlarutnya akan mengalami peningkatan (Suliantari dan Rahayu, 1990). Adanya enzim proteolitik dari kapang ini menyebabkan proses hidrolisis protein menjadi asam amino cepat, sehingga dapat memperbaiki pencernaan (Harris dan Karmas, 1989; Abun dkk., 2003). Enzim proteolitik yang dihasilkan dapat merombak rantai polimer yang panjang dari protein, hal tersebut terjadi pula pada ion sianida, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan atau hilangnya HCN. Selanjutnya *Rhizopus oligosporus* menghasilkan enzim  $\beta$ -glukosidase yang dapat menguraikan senyawa HCN (Purawisastra dan Affandi, 1998).

Proses fermentasi dipengaruhi oleh dosis dan waktu (Fardiaz, 1989; Rahman, 1992; Iskandar, 2009). Tingkat dosis berkaitan dengan besaran populasi mikroba yang berpeluang menentukan cepat tidaknya perkembangan mikroba dalam menghasilkan enzim untuk merombak substrat sehingga pada gilirannya berpengaruh terhadap produk akhir. Semakin tinggi dosis inokulum, semakin banyak populasi mikroba (kapang) dan komponen substrat yang dirombak. Lama inkubasi berkaitan dengan waktu yang akan digunakan kapang untuk tumbuh dan berkembang biak. Selama masa tersebut, kapang terus menggunakan komponen-komponen substrat untuk kelangsungan hidupnya.

berkembang biak sehingga jumlah komponen substrat yang dapat diubah semakin sedikit (Abun, 2003).

### Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan adalah biji kecipir sebagai substrat fermentasi, kapang *Rhizopus oligosporus*, dan beras sebagai sumber energi untuk kapang pada saat pembuatan inokulum. Bahan lainnya adalah aquades, alkohol, NaCl fisiologis, spiritus dan air.

Peralatan yang digunakan adalah: *Autoclave* untuk mensterilkan alat, blender untuk menghaluskan substrat, tabung reaksi, *Erlenmeyer*, kantong plastik, kapas, kain kasa, aluminium foil, neraca analitik dan digital, pipet, pH meter, jarum ose, lemari fermentor, dan perangkat alat Analisis Proksimat.

### Prosedur Percobaan

Percobaan dimulai dari pembuatan media agar dengan cara memasak 100 g kentang yang telah diblender dan 500 ml aquadest dalam beker glass hingga terbentuk ekstrak kentang, disaring ke dalam erlenmeyer dengan corong yang dilapisi kain kasa. Ekstrak kentang ditambah dengan 10 g gula pasir dan 30 g agar batangan lalu dimasak sampai larut, disterilisasi dengan *autoclave* pada tekanan 1 atm, suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan dalam tabung reaksi masing-masing 3,0 ml, ditutup kapas dan diletakkan dengan posisi miring.

Media agar yang sudah jadi digunakan untuk perbanyak kapang. Biakan murni *Rhizopus oligosporus* digoreskan pada media agar miring secara aseptis dengan menggunakan jarum ose ke dalam tabung reaksi yang berisi media agar kemudian diinkubasikan selama 3 hari pada suhu kamar. Selanjutnya adalah pembuatan inokulum *Rhizopus oligosporus* yang digunakan dalam proses fermentasi biji kecipir.

Biji kecipir digiling terlebih dahulu, kemudian ditambahkan 1% tepung beras dan air sebanyak 60% (v/b) dan diaduk sampai rata. Selanjutnya disterilisasi, kemudian ditiriskan sampai suhu mencapai 30°C. Substrat yang akan di fermentasi, diinokulasi dengan inokulum *Rhizopus oligosporus* pada dosis 0,1% (b/b), 0,2% (b/b), dan 0,3% (b/b). Masing-masing ditimbang sebanyak 100 g, kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dengan ketebalan 2 cm dan dilubangi agar tercipta suasana aerob. Selanjutnya diinkubasikan dalam ruang fermentor pada suhu 30°C selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Guna menjaga kelembaban selama

proses fermentasi, bagian bawah rak fermentor dipasang baki plastik yang telah diisi dengan air. Setelah masing-masing perlakuan mencapai waktu inkubasi, selanjutnya dilakukan sterilisasi selama 15 menit, kemudian dikeringkan. Selanjutnya dilakukan analisis kandungan protein murni dan HCN pada produk fermentasi biji kecipir.

### Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati adalah peningkatan kandungan protein murni dan penurunan kandungan asam sianida. Perhitungan perubahan kandungan protein murni dan asam sianida adalah sebagai berikut :

$$\text{Perubahan nutrisi (\%)} = \frac{(K_2 - K_1)}{K_1} \times 100\%$$

Keterangan :

K<sub>1</sub> = Kandungan nutrisi sebelum bioproses

K<sub>2</sub> = Kandungan nutrisi setelah bioproses

### Rancangan Percobaan dan Analisis Statistik

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang (3x3) dengan tiga kali ulangan. Perlakuan terdiri atas faktor A, yaitu dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* (d<sub>1</sub> = 0,1% b/b, d<sub>2</sub> = 0,2% b/b, dan d<sub>3</sub> = 0,3% b/b) dan faktor B yaitu waktu fermentasi (w<sub>1</sub> = 24 jam, w<sub>2</sub> = 48 jam, dan w<sub>3</sub> = 72 jam). Faktor B (waktu) tersarang pada faktor A (dosis). Untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan, dilakukan pengujian dengan menggunakan jarak berganda Duncan.

### Hasil dan Pembahasan

Bioproses adalah proses yang dilakukan oleh mikroba untuk mengubah suatu senyawa menjadi produk lain yang berguna dan memiliki nilai lebih. Produk yang dihasilkan adalah sel-sel mikroba, enzim, metabolik primer dan metabolik sekunder. Protein murni merupakan asam amino yang mewakili nitrogen dan ditemukan terikat dalam ikatan peptida untuk membentuk protein. Adapun asam sianida (HCN) merupakan zat anti nutrisi yang menjadi pembatas dalam penggunaan bahan pakan untuk unggas.

Rataan peningkatan kandungan protein murni dan penurunan asam sianida pada bioproses biji kecipir oleh *Rhizopus oligosporus*, disajikan pada Tabel berikut.

Tabel Rataan Peningkatan Kandungan Protein Murni dan Penurunan Asam Sianida pada Bioproses Biji Kecap oleh *Rhizopus oligosporus*.

Perlakuan	Peningkatan Kandungan Protein Murni ....(%)....	Penurunan Kandungan Asam Sianida ...(mg/kg)....
d1w1	19,17 <sup>A</sup>	86,45 <sup>A</sup>
d1w2	6,60 <sup>A</sup>	92,06 <sup>A</sup>
d1w3	37,92 <sup>A</sup>	94,69 <sup>A</sup>
d2w1	17,96 <sup>A</sup>	89,13 <sup>A</sup>
d2w2	46,90 <sup>C</sup>	92,05 <sup>A</sup>
d2w3	43,44 <sup>B</sup>	94,69 <sup>A</sup>
d3w1	21,83 <sup>A</sup>	94,65 <sup>A</sup>
d3w2	26,54 <sup>A</sup>	94,72 <sup>B</sup>
d3w3	31,25 <sup>A</sup>	97,29 <sup>C</sup>

Tabel di atas menunjukkan adanya perbedaan kandungan protein murni dan asam sianida pada bioproses biji kecap oleh *Rhizopus oligosporus*. Perlakuan d2w2 menghasilkan peningkatan kandungan protein murni tertinggi yaitu sebesar 46,90%, sedangkan perlakuan d1w2 menghasilkan peningkatan kandungan protein murni terendah yaitu sebesar 6,60%. Tabel tersebut memperlihatkan pula bahwa perlakuan d3w3 menghasilkan penurunan kandungan asam sianida tertinggi yaitu sebesar 97,29%, sedangkan perlakuan d1w1 menghasilkan penurunan kandungan asam sianida terendah yaitu sebesar 86,45%. Perbedaan nilai tersebut disebabkan oleh adanya perbedaan dosis dan waktu pada bioproses.

Dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* 0,2% dengan waktu fermentasi selama 42 jam (d2w2) nyata lebih tinggi peningkatan kandungan protein murni dibanding dengan perlakuan lainnya. Dosis inokulum yang digunakan menentukan kandungan protein murni substrat produk fermentasi. Tingkat dosis berkaitan dengan besaran populasi mikroba yang berpeluang menentukan cepat tidaknya perkembangan mikroba dalam menghasilkan enzim untuk merombak substrat sehingga pada gilirannya berpengaruh terhadap produk akhir. Kenaikan kandungan protein murni produk fermentasi

disebabkan oleh turunnya nutrisi lain seperti karbohidrat dan lemak yang digunakan oleh kapang untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya. Kapang dapat mensintesis protein dengan mengambil sumber karbon dari karbohidrat (glukosa, sukrosa, dan maltosa), sumber nitrogen dari bahan organik atau anorganik, dan mineral dari substratnya (Fardiaz, 1989; Hardjo dkk., 1989). Meningkatnya protein murni substrat, karena karbohidrat dan lemak berkurang dipergunakan oleh mikroba sedangkan protein ditahan oleh mikroba berubah menjadi protein tunggal (Rahman, 1992; Rusdi, 1992). Semakin banyak pertumbuhan kapang maka kandungan protein substrat bertambah dari tubuh kapang yang tumbuh (Aisjah, 1995; Abun, 2003).

Dosis inokulum yang rendah menghasilkan peningkatan kandungan protein murni pun lebih rendah. Hal tersebut disebabkan oleh terbatasnya kesempatan mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak sehingga produksi enzim sebagai produk metabolit tidak optimal. Begitu pula dosis inokulum terlalu tinggi menyebabkan zat-zat makanan berkurang sehingga proses fermentasi tidak optimal. Tanuwidjaja (1975) dan Iskandar (2009) menyatakan bahwa jumlah mikroba yang terlalu banyak dapat menyebabkan sporulasi yang terlalu cepat sehingga sebagian energi tidak digunakan untuk memperbanyak sel, begitu pula sebaliknya jumlah mikroba yang sedikit mengakibatkan pertumbuhannya tidak optimal. Lebih lanjut Sulaiman (1988) dan Aisjah (1995) mengemukakan bahwa kandungan protein produk fermentasi secara proporsional akan mengalami peningkatan sejalan dengan lama fermentasi sampai batas waktu tertentu, kemudian menurun kembali. Hidayat (2009) mempertegas bahwa fermentasi oleh kapang *Rhizopus oligosporus* pada waktu 1-30 jam merupakan fase pertumbuhan cepat, terjadi peningkatan suhu dan asam lemak bebas. Pada waktu 30-50 jam merupakan fase transisi dan merupakan fase optimal ditandai dengan penurunan suhu, dan jumlah asam lemak yang dibebaskan, pertumbuhan kapang tetap, flavor spesifik dan tekstur lebih kompak. Pada waktu 50-90 jam merupakan fase pembusukan ditandai dengan peningkatan jumlah bakteri dan jumlah asam lemak

bebas, pertumbuhan kapang menurun dan pada kadar air tertentu pertumbuhan kapang terhenti.

Sifat racun sianida bukan dalam bentuk asam melainkan dalam bentuk ion sianida. Ion sianida mengandung unsur nitrogen yang dapat larut menjadi empat kali lipat sehingga terjadi pembentukan asam amino bebas (Gushairiyanto, 2004). Purawisastra dan Affandi (1998) mengemukakan bahwa salah satu sifat *Rhizopus oligosporus* adalah mempunyai aktivitas proteolitik yang tinggi. Enzim protease merombak rantai polimer yang panjang dari protein, hal tersebut terjadi juga pada ion sianida, hasil akhir fermentasi antara lain air sehingga terjadi ionisasi dan menyebabkan terjadinya penurunan asam sianida. Penurunan kandungan asam sianida berbanding terbalik dengan kenaikan kandungan protein murni produk fermentasi biji kecipir. Semakin tinggi dosis dan lama waktu fermentasi (sampai batas waktu tertentu), semakin tinggi pula penurunan kandungan asam sianida, dan terjadi peningkatan kandungan protein murni (Aisjah, 1995; Abun, 2003).

Produk bioproses biji kecipir oleh *Rhizopus oligosporus* pada dosis inokulum 0,2% (2 g/kg substrat) dengan lama fermentasi 48 jam menghasilkan peningkatan protein murni tertinggi, yaitu sebesar 46,90% (dari 15,70% menjadi 23,06%). Adapun penurunan kandungan asam sianida tertinggi diperoleh pada dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* sebesar 0,3% (3 g/kg substrat) dengan waktu fermentasi 72 jam, yaitu sebesar 97,29% (dari 45,48 mg/kg menjadi 1,23 mg/kg).

### Kesimpulan dan Saran

Dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* 0,2% (b/b) dan waktu fermentasi 48 jam menghasilkan kenaikan kandungan protein murni tertinggi (46,90%). Penurunan asam sianida tertinggi diperoleh pada dosis inokulum *Rhizopus oligosporus* sebesar 0,3% (b/b) dengan waktu fermentasi 72 jam (97,29%).

Perlu dilakukan pengujian secara biologis pada ternak unggas untuk mendapatkan tingkat penggunaan produk bioproses biji kecipir yang difermentasi oleh *Rhizopus oligosporus*.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Iwan Ridwan, SPt. dan Ari Setiya Budi, SPt. yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada Kepala Laboratorium Nutrisi Ternak Unggas, Non ruminansia dan Industri Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, serta sdr. Jhondri, ST., sdr. Suryaman Malik, atas terlaksananya penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Abun. 2003. *Pengaruh Dosis Inokulan Aspergillus niger dan Lama Fermentasi terhadap Perubahan Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar Ampas Umbi Garut*. Tesis. Program Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Abun, D. Rusmana dan N. P. Indriani. 2003. *Penentuan Kecernaan Ransum Mengandung Ampas Umbi Garut (Maranta arundinacea Linn.) pada Ayam Broiler dengan Metode Pemotongan*. Jurnal Bionatura Vol.5(3):227-238.
- Agustiningsih, D. 2002. *Pengaruh Penggunaan Bungkil Biji Karet Fermentasi dengan Inokulum Tempe dan Oncom terhadap Performans Ayam Pedaging*. Tesis. Program Pascasarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Aisjah, T. 1995. *Biokonversi Limbah Umbi Singkong Menjadi Bahan Pakan Sumber Protein Oleh Jamur Rhizopus sp. Serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Ayam Pedaging*. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Gushairiyanto. 2004. *Detoksifikasi dan Fermentasi Kulit Umbi Ketela Pohon dengan Kapang Aspergillus niger serta Implikasinya Terhadap Kambing Kacang Jantan*. Disertasi, Program Pascasarjana. Universitas Padjadjaran, Bandung.

- Hardjo, S., N.S. Indrasti dan P. Bantacut. 1989. *Biokonversi : Pemanfaatan limbah industri pertanian*. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor. 14-20
- Harris, R. S. dan E. Karmas. 1989. *Evaluasi Gizi pada Pengolahan Bahan Pangan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Haslina dan E. Pratiwi. 1996. *Manfaat Tempe Bagi Gizi dan Kesehatan Manusia*. Sainteks. 3.(4) : 45-51.
- Hidayat, N. 2009. *Tahapan Proses Pembuatan Tempe*. [http:// lecture.brawijaya.ac.id/nurhidayat/](http://lecture.brawijaya.ac.id/nurhidayat/). Diakses pada tanggal 9 Juni 2011.
- Iskandar, J. 2009. Pengaruh Jumlah Inokulum dan Waktu Fermentasi Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) oleh *Rhizopus oligosporus* Terhadap Kandungan Protein Kasar dan Serat Kasar. Skripsi, Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Sumedang.
- Laboratorium Nutrisi Ternak Ruminansia dan Kimia Makanan Ternak. 2011. *Hasil Analisis Proksimat*. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Sumedang.
- Laboratorium Teknologi Pangan. 2011. *Hasil Analisis*. Fakultas Teknik Universitas Pasundan, Bandung.
- Ong, H.K. and S.W. Yeong. 1977. *Prospect for the Use of Rubber Seed Meal for Feeding Pigs and Foultry, in : Feeding Stuffs for Livestock in South East Asia*. Malaysia Society of Animal Production. P. 337-344.
- Purawisastra, S. dan E. Affandi. 1998. Pengujian Kemampuan Beberapa Strain Kapang *Rhizopus* Untuk Meningkatkan Kandungan Protein Singkong Pahit. *Prosiding Seminar Pertemuan Ilmiah Tahunan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi. Lampung. Hal. 58-64.
- Rahman, A. 1992. *Teknologi Fermentasi Industrial II*. Arcan, Jakarta.
- Rasyaf, M. 2005. *Beternak Ayam Ras Pedaging*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rukmana, R. 2000. *Kecipir, Budidaya dan Pengolahan Pasca Panen*. Kanisius, Yogyakarta.
- Rusdi, U. D. 1992. Fermentasi Konsentrat Campur Bungkil Biji Kapok dan Onggok Serta Implikasinya Terhadap Pertumbuhan Ayam Broiler. Disertasi. Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Samosir, D. J. 1985. Studi Laboratoris dan Biologis Biji Kecipir sebagai Bahan Makanan. Disertasi Institut Pertanian Bogor.
- Scott, M.L., M.C. Nesheim and R.J. Young. 1982. *Nutrition of the Chicken*. M.L. Scott and Associate, New York.
- Shurtleff, W. and A. Aoyagi. 1979. *The Book of Tempeh*. Professional Edition. Harper and Row Publisher. New York. 177-180.
- Simanjuntak, S. D. 1998. Pengaruh *Aspergillus niger* untuk Meningkatkan Nilai Gizi Bungkil Inti Sawit dalam Ransum Ayam Broiler. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sulaiman. 1988. *Studi Peningkatan Kualitas Kulit Singkong dengan Fermentasi oleh Aspergillus niger*. Tesis, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Suliantari dan W.P. Rahayu. 1990. *Teknologi Fermentasi Biji-bijian dan Umbi-umbian*. PAU-Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tanuwidjaja, L. 1975. *Sengle Cell Protein*. Ceramah Ilmiah. LKN-LIPI, Bandung.
- Tillman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokusumo dan S. Lebdoesoekojo. 1991. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Yuwanto, T.S., Harimurti dan M. Anwar. 1981. Biji Kecipir sebagai Pengganti Kedelai di Dalam Makanan Ayam Broiler. *Buletin Fakultas Peternakan, Universitas Gajah Mada*. Yogyakarta, hal. 16-17.
- Wahju, J. 1997. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Cetakan keempat. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.