

PENGARUH FERMENTASI KULIT BIJI COKLAT DENGAN *Aspergillus niger* TERHADAP KADAR PROTEIN, SERAT KASAR DAN BAHAN ORGANIK

(THE EFFECT OF COCOA SHELL FERMENTED WITH *Aspergillus niger* ON CRUDE PROTEIN, CRUDE FIBER AND ORGANIC MATTER CONTENT)

NENI GUSMANIZAR*, JURNIDA RAHMAN* DAN AZMI KHALID**

Abstract

This experiment was conducted to find out the effect of fermentation cocoa shell with *Aspergillus niger* on dry and organic matter, crude protein and crude fiber content. Cocoa shell was fermented with *Aspergillus niger* for 2, 4 and 6 days (Factor A) and inoculum 3, 4 and 5% (Factor B). Completely randomized design was used in factorial arrangement (3x3 with 2 replication)

The result of experiment showed that there were interactions ($P < 0,01$) between incubation time and inoculum level on crude protein and fiber contents. However organic matter contents affected ($P < 0,01$) by incubation time.

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh fermentasi kulit biji coklat dengan *Aspergillus niger* terhadap kadar bahan kering (BK), Bahan Organik (BO), Protein Kasar (PK) dan serat kasar. Kulit biji coklat difermentasi dengan *Aspergillus niger* selama 2, 4 dan 6 hari (Faktor A) dan persentase inokulum 3, 4, 5% dari substrat (Faktor B). Rancangan yang digunakan adalah rancangan Acak lengkap pola faktorial 3 x 3 dengan 2 ulangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi dan persentase inokulum dapat meningkatkan kandungan protein kasar ($P < 0,01$) dan menurunkan serat kasar ($P < 0,04$). Sedangkan kandungan bahan organik hanya dipengaruhi ($P < 0,01$) oleh lama fermentasi.

PENDAHULUAN

Para ahli ilmu makanan ternak selalu berusaha meningkatkan ketersediaan bahan-bahan makanan ternak dengan cara mencari alternatif pengganti bahan yang masih diperlukan manusia dengan bahan lain yang relatif murah, mudah didapat, nilai gizi memadai dan tersedia secara kontinyu.

Peranan limbah industri pertanian cukup besar artinya dalam rangka mensuplai bahan makanan ternak. Salah satu limbah industri pertanian yang potensial dimanfaatkan sebagai bahan makanan ternak adalah limbah industri coklat

* Staf Pengajar Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak FATERNA UNAND

** Mahasiswa Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak FATERNA UNAND

yaitu berupa kulit buah, kulit biji dan lumpur coklat yaitu berupa kulit buah, kulit biji dan lumpur coklat.

Kulit biji coklat merupakan salah satu limbah pengolahan buah coklat yang mempunyai kandungan gizi; protein kasar 20,76%, lemak kasar 6,02%, serat kasar 24,38%, BETN 41,75%, Ca 0,95% dan P 0,15% (Hasil analisa Laboratorium Gizi Dasar, Fakultas Peternakan UNAND, 1997).

Pemakaian pakan alternatif tentu tak terlepas dari masalah, seperti ; rendahnya nilai gizi dan kehadiran 'limiting factor' bahan tersebut. Kulit biji coklat mengandung antinutrisi yang disebut theobromin, selain itu juga mengandung serat kasar yang cukup tinggi. Jadi, kandungan protein yang tinggi masih belum menjamin tingginya kualitas bahan pakan (kulit biji coklat). Dari penelitian-penelitian terdahulu diketahui bahwa penggunaan kulit biji coklat dalam ransum masih relatif rendah, yaitu 5% dalam ransum ayam broiler (Hidayati, 1992), 15% dalam ransum sapi perah (Gusmanizar, 1993).

Untuk optimalisasi penggunaan kulit biji coklat sebagai pakan ternak, maka perlu dilakukan perlakuan-perlakuan tertentu sehingga nilai nutrisinya menjadi lebih baik. Perlakuan tersebut antara lain adalah fermentasi, dimana menurut Saono (1988), fermentasi dapat memperbaiki sifat-sifat tertentu dari bahan seperti; menjadi lebih mudah dicerna, lebih tahan disimpan dan dapat menghilangkan senyawa racun yang dikandungnya sehingga nilai ekonomis bahan dasarnya menjadi lebih baik.

Salah satu mikroba yang digunakan dalam fermentasi bahan pakan adalah kapang *Aspergillus niger*. Kapang ini sangat baik untuk dikembangkan karena endosporannya tahan terhadap panas, mudah tumbuh dengan cepat, tidak memerlukan zat pemacu tumbuh dan tidak bersifat mycotoxic (Winamo, 1986). Selain itu *Aspergillus niger* juga menghasilkan enzim amilase, amiloglukosidase, pektinase dan selulase (Frazier dan Westhoff, 1981). Maka dalam hal ini dilakukan fermentasi kulit biji coklat dengan kapang *Aspergillus niger* dengan tujuan adalah untuk mengetahui pengaruh fermentasi tersebut terhadap bahan kering (BK), bahan organik (BO), protein kasar (PK) dan serat kasar (SK) kulit biji coklat.

METODE PENELITIAN

Kulit biji coklat diperoleh dari perkebunan coklat PT. MAWARINDO JAYA SEJATI, Rumbai Propinsi Riau. Selanjutnya kulit biji coklat dibuat menjadi tepung.

Inokulum yang digunakan adalah biakan murni *Aspergillus niger* Cz 51 VI/1 didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Balitbang LIPI Bogor.

Peralatan yang digunakan terdiri dari ayakan, saringan, kantong plastik tahan panas, cawan petri, tabung reaksi, lampu bunsen, ose, kapas, aluminium foil, timbangan, tanur, otoklaf, termometer, mikroskop, lemari es, inkubator dan peralatan untuk analisa bahan kering, bahan organik, protein kasar dan serat kasar.

Zat kimia meliputi larutan Brook et al (1969) dan zat-zat kimia yang digunakan dalam berbagai analisa Laboratorium.

Kapang *Aspergillus niger* dibiakkan terlebih dahulu dengan menumbuhkan kapang tersebut pada campuran dedak dan aquades yang telah disterilisasi.

Inokulum *Aspergillus niger* yang telah siap, diinkubasikan pada substrat fermentasi (kulit biji coklat) yang telah disterilisasi dan sebelumnya substrat fermentasi diaduk rata dengan 6 ml larutan Brook et al. Penginokulasian Inokulum pada substrat fermentasi sesuai dengan level inokulum dan waktu fermentasi pada penelitian ini. Hasil fermentasi kemudian dipanen dan dikeringkan (60°C), lalu dianalisis kandungan gizinya Nur (1993).

Peubah yang diamati adalah kadar bahan kering, bahan organik, protein kasar dan serta kasar.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial (3x3 dengan 2 ulangan), dimana faktor A adalah lama fermentasi yaitu 2, 4 dan 6 hari, faktor B adalah persentase inokulum, yaitu 3, 4 dan 5%.

Model matematik rancangan yang digunakan adalah :

$$Y_{ijk} = U + A_i + B_j + A_{ij} + E_k (ij)$$

Y_{ijk} = Nilai pengamatan umum

U = Nilai tengah umum

A_i = Pengaruh taraf ke-i dari faktor A

B_j = Pengaruh taraf ke-j dari faktor B

A_{ij} = Pengaruh interaksi antara taraf faktor A ke-i dan taraf ke-j faktor B

$E_k(ij)$ = Pengaruh galat ulangan ke-k dari perlakuan kombinasi ke-ij.

Hasil yang berbeda diuji lebih lanjut dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Bahan Kering KBCF(Kulit Biji Coklat Fermentasi)

Rata-rata kandungan bahan kering KBCF (%) dapat dilihat pada Tabel. 4 di bawah ini:

Tabel. 4. Rataan Bahan Kering KBCF (%).

Persentase inokulum	Lama Fermentasi (hari)			Rata-rata
	2	4	6	
3	51,945 ^a	47,195 ^c	42,185 ^f	47,110
4	51,900 ^a	44,900 ^d	41,475 ^e	46,090
5	50,375 ^b	45,780 ^e	41,870 ^f	46,010
Rata-rata	51,410	45,960	41,840	46,400

Keterangan: Superkrip yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa faktor A (lama fermentasi) dan faktor B (persentase inokulum) berpengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan bahan kering KBCF dan terdapat interaksi antara kedua faktor tersebut.

Adanya pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) interaksi antara lama fermentasi dan persentase inokulum disebabkan perbedaan populasi kapang. Semakin lamanya fermentasi maka kesempatan kapang untuk tumbuh akan lebih lama. Perkembangan dan peningkatan populasi kapang akan semakin cepat dengan semakin tingginya persentase inokulum. Kapang yang terkandung di dalam substrat membutuhkan O_2 untuk respirasi. Pada proses respirasi akan dihasilkan CO_2 dan H_2O selain energi. Jika populasi kapang tinggi maka semakin banyak air yang dihasilkan dan secara simultan akan terjadi penurunan bahan kering.

Menurut Fardiaz (1987), mikroorganisme menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi setelah terlebih dahulu dipecah menjadi glukosa. Pemecahan glukosa selanjutnya melalui jalur glikolisis sampai akhirnya dihasilkan energi. Selain energi juga dihasilkan molekul air (H_2O) dan CO_2 . Sebagian air akan keluar dari produk sehingga bahan kering cenderung menurun setelah fermentasi.

Semakin banyak persentase inokulum yang digunakan maka makin cepat proses fermentasi berlangsung dan semakin lama fermentasi maka bahan yang dirombak juga semakin banyak sehingga akan terjadi penurunan bahan kering (Sulaiman, 1988). Cochrane (1958) menyatakan pula bahwa 85 – 90 % berat segar miselium terdiri dari air.

Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa perlakuan A1B1(2 hari, 3 %) berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan A1B2 (2 hari, 4 %) dan kedua perlakuan tersebut berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan 7 perlakuan lainnya yaitu; A1B3(2 hari, 5 %), A2B1(4 hari, 3 %) ,A2B2(4 hari 4 %), A2B3(4 hari, 5 %), A3B1(6 hari, 3 %), A3B2(6 hari, 4 %) dan A3B3(6 hari, 5 %). Perlakuan A2B1(4 hari, 3 %), A2B2(4 hari, 4 %), A2B3(4 hari, 5 %) dan A3B1(6 hari, 3 %) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) satu sama lain. Di sini terlihat bahwa pada hari ke-6 fermentasi persentase inokulum berpengaruh berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap kandungan bahan kering. Hal ini disebabkan karena pada saat tersebut pertumbuhan kapang dari beberapa persentase inokulum hampir sama. Pada saat ini kapang pada persentase inokulum yang lebih tinggi diduga sudah ada yang mati dan pertumbuhannya sudah melambat karena terakumulasinya hasil metabolisme yang bersifat inhibitor bagi pertumbuhan kapang. Asam yang dihasilkan akan menurunkan pH dan proses respirasi akan menghasilkan CO_2 dan panas. Menurut Cochrane (1958), pH yang rendah, konsentrasi CO_2 yang tinggi dan suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah akan menghambat pertumbuhan kapang.

Kandungan Bahan Organik KBCF

Rataan kandungan bahan organik KBCF(%) dapat dilihat pada Tabel. 5.

Tabel. 5. Rataan Kandungan Bahan Organik KBCF(%)

Persentase inokulum	Lama Fermentasi(hari)			Rata-rata
	2	4	6	
3	91,690	91,720	89,720	91,040
4	91,090	91,330	89,610	90,680
5	91,550	91,540	89,375	90,820
Rata-rata	91,440 ^a	91,530 ^a	89,570 ^b	90,847

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil analisis keragaman memperlihatkan bahwa lama fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan bahan organik KBCF, sedangkan persentase inokulum serta interaksi antara persentase inokulum dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). terhadap kandungan bahan organik KBCF.

Lama fermentasi berpengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan bahan organik substrat karena kesempatan kapang untuk merombak bahan organik substrat berbeda-beda pula. Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) antara A1 (2 hari fermentasi) dan A2 (4 hari fermentasi) terhadap penurunan kadar bahan organik, namun berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan perlakuan A3 (6 hari fermentasi). Diduga fase spirolasi kapang baru dicapai pada hari ke-5. Fase spirolasi yaitu fase dimana enzim amilase sangat aktif merombak karbohidrat untuk menghasilkan energi yang dibutuhkan untuk aktifitas metabolisme kapang. Dugaan ini didasari oleh pendapat Cochrane (1958) bahwa enzim amilase *Aspergillus niger* mulai dilepas dan beraktifitas dengan cepat pada hari ke-5 dan kandungan gula substrat menurun tajam pada jam yang keseratus (ke-100) fermentasi, sedangkan karbohidrat itu sendiri merupakan komponen terbesar dari bahan organik.

Kandungan Protein Kasar KBCF

Rataan kandungan protein kasar KBCF(%) dapat dilihat pada Tabel 6. di bawah ini;

Tabel. 6 Rataan Kandungan Protein Kasar KBCF(%)

Persentase inokulum	Lama Fermentasi (hari)			Rata-rata
	2	4	6	
3	28,950	30,060	29,630	29,550 ^a
4	31,060	31,170	32,115	31,450 ^b
5	36,190	38,575	38,760	37,840 ^c
Rata-rata	32,070 ^a	33,270 ^b	33,500 ^b	32,946

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil analisis keragaman memperlihatkan bahwa lama fermentasi dan persentase inokulum memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan protein kasar KBCF, namun tidak terjadi interaksi antara kedua faktor tersebut ($P > 0,05$).

Berbeda sangat nyatanya ($P < 0,01$) lama fermentasi terhadap kandungan protein kasar KBCF disebabkan berbedanya kesempatan kapang untuk melakukan aktifitas metabolisme. Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin banyak kesempatan kapang *Aspergillus niger* untuk tumbuh dan berkembang. Selama fermentasi kapang menghasilkan enzim dan enzim tersebut terdiri dari protein sedangkan mikroba itu sendiri merupakan protein sel tunggal (Fardiaz, 1988) yang kandungan proteinya 31 – 50 % (Yong dan Scrimshaw, 1975).

Dari hasil uji lanjut DMRT diketahui faktor A1 (2 hari fermentasi) berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan A2 (4 hari fermentasi) dan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan faktor A3 (6 hari fermentasi), sedangkan A2 berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan faktor A3. Jadi protein kasar KBCF meningkat dengan nyata dari A1 (2 hari fermentasi) ke A2 (4 hari fermentasi), namun setelah itu tidak terjadi lagi peningkatan yang nyata. Hal ini terjadi karena populasi kapang sangat tinggi dengan bergenerasi beberapa kali, dimana kapang beregenerasi dalam satu kali 180 menit (Cooney, 1981). Saat ini mulai terakumulasi produk-produk metabolisme yang bisa berefek inhibitor bagi kapang dengan kondisi tersebut kapang berkompetisi untuk tetap hidup dan yang kurang adaptif akan mati. Sehingga di capai fase stasioner pada pertumbuhan kapang tersebut. Bila pertumbuhan kapang memasuki fase stasioner maka populasi sel akan tetap (Fardiaz, 1992), dan semakin tua usia miselium kapang maka kandungan proteinya semakin rendah (Cochrane, 1958).

Persentase inokulum juga memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan protein kasar KBCF. Hal ini disebabkan dengan semakin tingginya persentase inokulum maka jumlah kapang yang tumbuh dan berkembang akan semakin banyak.

Uji lanjut DMRT terhadap faktor B (persentase inokulum) memperlihatkan perlakuan B1(3%), B2(4%) dan B3(5%) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) satu sama lain. Penambahan persentase inokulum akan meningkatkan protein kasar KBCF. Hal ini berkaitan erat dengan lebih cepatnya peningkatan populasi kapang yang sejalan dengan produksi enzim, yang mana enzim dan kapang tersebut merupakan protein (Fardiaz, 1988).

Kandungan Serat Kasar KBCF

Rataan kandungan serat kasar KBCF(%) dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel. 7 Rataan Kandungan Serat Kasar KBCF(%)

Persentase Inokulum	Lama Fermentasi			Rata-rata
	2	4	6	
3	20,175 ^a	19,025 ^{bc}	21,465 ^d	20,220
4	19,570 ^{ac}	19,705 ^{ac}	23,635 ^e	20,970
5	18,285 ^b	22,125 ^d	24,470 ^e	21,63
Rata-rata	19,340	20,285	23,190	20,940

Keterangan : Superkrip yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Dari hasil analisis keragaman dapat dilihat bahwa interaksi antara lama fermentasi dan persentase inokulum memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan serat kasar KBCF, demikian juga halnya dengan lama fermentasi dan persentase inokulum.

Berbeda sangat nyatanya ($P < 0,01$) pengaruh interaksi lama fermentasi dan persentase inokulum terhadap kandungan serat kasar KBCF berkaitan erat dengan semakin lamanya fermentasi maka akan memberikan kesempatan yang lebih lama bagi kapang untuk tumbuh. Seiring dengan itu persentase inokulum yang lebih tinggi akan menghasilkan perkembangan dan peningkatan populasi kapang yang lebih cepat.

Selama pertumbuhannya, di samping mensintesis enzim kapang akan membentuk miselium yang banyak mengandung serat kasar. Bila pertumbuhan dan perkembangan kapang tinggi, maka miselium yang terbentuk akan banyak yang pada akhirnya akan meningkatkan kandungan serat kasar KBCF. Hal ini sesuai dengan pendapat Gooday (1973) bahwa peningkatan serat kasar hasil fermentasi disebabkan oleh adanya penambahan jumlah miselium kapang.

Hasil uji lanjut DMRT pada interaksi lama fermentasi dan persentase inokulum menunjukkan perlakuan A1B1(2 hari, 3 %), A1B2(2 hari, 4 %) dan A2B2(4 hari, 4 %) berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) satu sama lain, perlakuan A1B2(2 hari, 4 %), A2B1(4 hari, 3 %) dan A2B2(4 hari, 4 %) masing-masingnya juga berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Selanjutnya perlakuan A1B3(2 hari, 5 %) berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan A2B1(4 hari, 3 %), perlakuan A2B3 (4 hari, 5 %) berbeda tidak nyata dengan A3B1(6 hari, 3 %) dan A3B2 (6 hari, 4 %) berbeda tidak nyata dengan A3B3(6 hari, 5 %). Dari superskrip pada Tabel. 7 terlihat bahwa 5 perlakuan yang pertama yaitu; A1B1(2 hari, 3 %), A1B2(2 hari, 4 %), A1B3(2 hari, 5 %), A2B1(4 hari, 3 %) dan A2B2(4 hari, 4 %) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan 4 perlakuan berikutnya yaitu; A2B3(4 hari, 5 %), A3B1(6 hari, 3 %), A3B2(6 hari, 4 %) dan A3B3). Serat kasar terendah terdapat pada perlakuan A1B3 yaitu 18,825 %.

Dari data pada Tabel. 7 terlihat pada awal fermentasi terjadi penurunan serat kasar, kemudian berangsur-angsur naik. Hal ini disebabkan karena dalam fermentasi dihasilkan enzim selulolitik yang merombak komponen kompleks (selulosa) menjadi karbohidrat sederhana. Hal ini sesuai dengan pendapat Frazier dan Westhoff, (1981) bahwa *Aspergillus niger* menghasilkan enzim selulase,

amilase, amiloglukosidase dan pektinase. Setelah pertumbuhan dan perkembangan kapang makin pesat maka terjadi pembentukan miselium kapang yang tidak proporsional lagi dengan enzim selulolitik yang dihasilkan, sehingga kandungan serat kasar terus meningkat.

Ini sesuai dengan pendapat Shurtleff dan Aoyagi (1979) dimana hampir semua peneliti menemukan kadar serat kasar meningkat selama fermentasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi dan persentase inokulum dapat meningkatkan kandungan protein kasar, menurunkan serat kasar sampai periode tertentu dan menurunkan kandungan bahan kering kulit biji coklat fermentasi. Sedangkan penurunan kandungan bahan organik hanya dipengaruhi oleh lama fermentasi. Serat kasar terendah diperoleh pada lama fermentasi 2 hari dan persentase inokulum 5 %, sedangkan protein kasar tertinggi diperoleh pada 6 hari fermentasi dan persentase inokulum 5 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian Universitas Andalas yang telah membiayai penelitian ini melalui proyek Pengembangan Dosen Muda tahun 1998/1999

DAFTAR PUSTAKA

- Brook, E.J., W.R. Stanton and A.W. Bridge, 1969, Fermentation Methods for Protein Enrichment of cassava, *Biotech, Bioeng*-11:1271-1284.
- Fardiaz S, 1988, Fisiologi Fermentasi, PAU, Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- _____, 1992, Mikrobiologi Pangan I, PAU, Pangan dan Gizi, IPB-Gramedia Pustaka Utama Jakarta.
- Frazier, W.C., and D.C. Westhoff, 1981, Food Microbiology, Mc Graw Hill, Pub. Co Ltd, New Delhi, India.
- Gooday, G.W, 1973. Differentiation in Mucorales. In : J.M Aswoth and J.E. Smith. Ed; Microbial Differentiation, Cambridge University Press, 187.

- Gusmanizar, Neni, 1993. Penggunaan Kulit Biji Coklat (*Theobroma cacao. L*) dalam ransum sapi perah laktasi, thesis, Program Pasca Sarjana IPB, Bogor.
- Hidayati. S.N., 1992, Penggunaan Kulit Biji Coklat (*Theobroma cacao. L*) dalam ransum ayam broiler, Fak. Peternakan IPB, Bogor.
- Nur, Y.S., Sofyan; L.A, R. Syarief dan D. Sugandi, 1993, Peningkatan Nilai Gizi Onggok dengan kultur Campuran sebagai Pakan Broiler, Prosseding Workshop Teknologi Lingkungan, DTPLH, BPPT, Jakarta.
- Saono.S., 1988, Pemanfaatan Jasad Renik Dalam Pengolahan Hasil Sampingan/sisa-sisa Produksi Pertanian, LIPI, Jakarta.
- Shurtleff, W. and, Akiko Aoyagi, 1979, The Book of Tempeh., Profesional Edition, Harper and Row Publisher, New York, Hager Stown, San Fransisco, London, A new Age Food Study Centre Book, 177-180.
- Steel, R.G.D., and J.H. Torrie, 1980, Principles and Procedures of Statistic, 2nd Edition, Mc Graw Hill Book Company, New York.
- Sulaiman, 1988, Studi Pembuatan Protein Mikroba dengan Ragi Amilolitik dan Ragi Simba Pada Media Padat dengan Bahan Baku Ubi Kayu (*Manihot utilissima*) PKL. Fateta IPB, Bogor.
- Young, V.R., N.S. Scrimshaw, 1975, Clinical Studies on the Nutritional Value of Single Cell Proteins, In; S-R, Tannenbaum and D.I.C. Wang, Single Cell Protein II, The Mit Press. Comridge, Marsaelm setts.