

## **PENURUNAN KADAR SIANIDA PADA UMBI GADUNG (*Dioscorea hispida*) DENGAN PROSES FERMENTASI MENGGUNAKAN KAPANG *RHIZOPUS ORYZAE***

Darwin Junaidi<sup>1)</sup>, Mario Christofer Kresna Pratama Santoso<sup>1)</sup>, Ery Susiany Retnoningtyas<sup>2)</sup>, Sandy Budi Hartono<sup>2)</sup>  
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jalan Kalijudan 37 Surabaya  
Email: [ery.srt@gmail.com](mailto:ery.srt@gmail.com)

### **ABSTRAK**

*Umbi gadung merupakan tanaman umbi – umbian yang jumlahnya cukup besar di Indonesia. Hingga saat ini umbi gadung masih belum dimanfaatkan secara maksimal. Umbi gadung memiliki kandungan sianida yang tinggi, sehingga jika dikonsumsi oleh manusia dapat menyebabkan keracunan hingga kematian. Pada penelitian pendahuluan terhadap bahan baku, umbi gadung memiliki kandungan sianida sebesar 424,92 ppm. Maka sianida harus dikurangi dengan melakukan metode fermentasi menggunakan *Rhizopus oryzae* agar umbi gadung dapat dikonsumsi oleh manusia dan tidak menyebabkan keracunan.*

*Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh waktu fermentasi dan volume nutrient yaitu 5,7,9 ml dalam proses penurunan kadar sianida dan pengaruh fermentasi terhadap kandungan protein, lemak dan pati pada umbi gadung. Mula-mula umbi umbi gadung dicuci bersih dan dikupas kulitnya terlebih dahulu, kemudian dipotong dengan ukuran (2 cm x 1 cm x 0,5 cm). Setelah itu, potongan umbi gadung disterilisasi dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan nutrient yang sudah ditambah inokulum *Rhizopus oryzae* dan difermentasi selama 5 hari.*

*Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan penurunan sianida terbaik dengan volume nutrien 9 ml, kandungan sianida setelah fermentasi menjadi 69,48 ppm. Sedangkan untuk kandungan protein naik dari 0,0133 g/g gadung menjadi 0,0263 g/g gadung, lemak naik dari 0,0048 g/g gadung menjadi 0,0133 g/g gadung dan untuk pati turun dari 0,167 g/g gadung menjadi 0,1586 g/g gadung.*

Kata kunci: umbi gadung, sianida, fermentasi, *Rhizopus oryzae*

### **I. Pendahuluan**

Indonesia merupakan Negara agraris yang berarti mayoritas penduduknya bermatapencaharian dibidang pertanian. Seharusnya sebagai Negara agraris diharapkan Indonesia mampu memenuhi kebutuhan pangan untuk warga negaranya sendiri. Tapi pada kenyataannya Indonesia masih mengimport bahan pangan dari Negara lain.

Tingkat pertumbuhan penduduk yang sangat tinggi membuat kebutuhan pangan ikut meningkat, maka diperlukan bahan pangan alternatif untuk mengantisipasi kekurangan bahan pangan. Salah satu bahan pangan alternatif adalah umbi gadung. Ketersediaan umbi gadung berlimpah, namun belum dimanfaatkan dengan maksimal karena umbi gadung memiliki kandungan sianida yang tinggi dan beracun bila dikonsumsi secara langsung tanpa pengolahan terlebih dahulu.

Selama ini umbi gadung diolah secara konvensional, seperti dikeringkan di bawah sinar matahari, direndam dengan air garam, dan lain lain (Rahayu. 2009). Akan tetapi proses-proses tersebut memiliki kekurangan, salah satunya adalah kandungan nutrisi pada umbi gadung menurun, maka dari itu dipilih metode yang dapat mengatasi kekurangan dari metode konvensional tersebut, salah satu metode yang digunakan adalah fermentasi menggunakan *Rhizopus oryzae*.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan yaitu mempelajari pengaruh waktu fermentasi dan volume nutrient dalam proses penurunan kadar sianida dan pengaruh fermentasi terhadap kandungan protein, lemak dan pati pada umbi gadung.

### **II. TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1. Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*)**

Pada penelitian bahan baku yang digunakan adalah umbi gadung. Gadung merupakan umbi yang dapat dimakan, namun umbi gadung mengandung linamarin ( $C_6H_{11}O_6C(CH_3)_2CN$ ), yang dapat menyebabkan pusing, tidak nyaman ditenggorokan, muntah darah, rasa tercekik, mengantuk dan kelelahan apabila masuk ke dalam tubuh walau dengan kadar yang rendah (Rahayu. 2009).

Umbi gadung selama ini diolah secara tradisional antara lain pengolahan dengan abu atau kapur. Hal ini difungsikan untuk mempercepat penurunan kadar sianida yang terkandung dalam umbi gadung. Selain itu, umbi gadung juga biasa diolah dengan direndam air garam. Proses tersebut dapat menurunkan sianida dalam gadung kurang lebih 1 – 10 mg sianida dalam setiap kilogram gadung yang diolah. Tetapi proses ini juga memiliki kekurangan, yaitu dapat melarutkan protein dalam umbi gadung, karena setelah direndam air garam, umbi gadung dialiri air mengalir untuk menghilangkan racun dan garam yang tersisa (Rahayu. 2009).

## II.2. Sianida

Sianida terdiri dari unsur karbon dan nitrogen radikal yang dapat ditemukan pada berbagai senyawa organik dan anorganik. Dalam bentuk umumnya hidrogen sianida adalah gas tidak berwarna atau cairan yang keruh, pahit, dan berbau seperti buah badam. Disisi lain sianida adalah racun yang sangat berbahaya. Apabila digabungkan dengan logam dan senyawa organik akan membentuk senyawa garam yang kompleks dan sederhana, jenis yang sering dijumpai adalah hidrogen sianida, natrium sianida, dan kalium sianida. Hidrogen sianida menjadi sangat berbahaya jika terkena panas, api, atau oksidator karena berpotensi menimbulkan kebakaran hebat. Semua jenis sianida beracun pada konsentrasi yang tinggi, tetapi hidrogen sianida adalah yang paling berbahaya. Jika masuk dalam tubuh dalam jangka pendek, sianida dapat menyebabkan sesak nafas, gemeteran, dan gangguan saraf lainnya. Sedangkan efek jangka panjangnya kehilangan berat badan, gangguan kelenjar gondok, kerusakan saraf, dan kematian. Jika kulit berkontak dengan cairan yang mengandung sianida akan terjadi nyeri dan iritasi (Department of Interior U.S., 2001).

## II.3. Fermentasi

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan atau tanpa akseptor elektron internal.

Keuntungan menggunakan fermentasi adalah kandungan nutrisi seperti protein, lemak, kandungan mineral, dan vitamin meningkat dibandingkan dengan sebelum fermentasi (Oboh dkk.2007). Selain itu fermentasi dilakukan dalam suhu ruang, sehingga protein yang terkandung tidak hilang atau rusak.

Fermentasi digolongkan menjadi 3, yaitu fermentasi permukaan, fermentasi cair, dan fermentasi padat. Pada proses fermentasi ini, fermentasi yang dilakukan adalah fermentasi substrat padat. Sistem fermentasi padat umumnya diidentikan dengan pertumbuhan mikroorganisme pada substrat dengan berbagai variasi kadar air. Substrat padat bertindak sebagai sumber karbon, nitrogen, mineral, dan faktor – faktor penunjang pertumbuhan, dan memiliki kemampuan untuk menyerap air, untuk pertumbuhan mikroba. Mikroorganisme yang tumbuh melalui sistem fermentasi padat berada pada kondisi pertumbuhan di bawah habitat alaminya, mikroorganisme tersebut dapat menghasilkan enzim dan metabolisme yang lebih efisien dibandingkan dengan sistem fermentasi cair. Sistem fermentasi padat memiliki lebih banyak manfaat dibandingkan dengan sistem fermentasi cair, diantaranya tingkat produktivitasnya tinggi, tekniknya sederhana, biaya investasi rendah, kebutuhan energi rendah, dan jumlah air yang dibuang sedikit. Manfaat lain dari sistem fermentasi padat adalah murah dan substratnya mudah didapat, seperti produk pertanian dan industri makanan (Tanyildizi dkk. 2007).

Mikroba yang digunakan adalah *Rhizopus oryzae*. Sebenarnya, ada mikroba lain yang dapat digunakan untuk mengurangi kadar sianida pada umbi gadung, yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Mikroba ini mampu mengurangi racun yang terdapat pada umbi gadung serta mampu meningkatkan kandungan protein pada umbi gadung tersebut. Namun, *Rhizopus oryzae* dipilih sebagai mikroba yang digunakan pada fermentasi ini, karena mampu mengurangi kadar sianida lebih baik daripada *Saccharomyces cerevisiae* (Oboh dkk.2007).

Faktor – faktor yang mempengaruhi fermentasi adalah kandungan nutrisi dalam substrat, pH, temperatur fermentasi, waktu fermentasi, dan kadar air. Untuk kapang *Rhizopus oryzae*, suhu optimum bagi pertumbuhannya adalah pada kisaran 30-37 °C, dan kelembaban yang optimal adalah pada kisaran 80-90%, sedangkan nutrisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhannya antara lain : nitrogen, fosfor, kalium, dan lain lain.

## II.4. *Rhizopus oryzae*

*Rhizopus oryzae* merupakan jamur yang sering digunakan dalam pembuatan tempe. Jamur ini aman dikonsumsi karena tidak menghasilkan toksin dan mampu menghasilkan asam laktat. *Rhizopus oryzae* mempunyai kemampuan mengurai lemak kompleks menjadi trigliserida dan asam amino. Selain itu jamur ini juga mampu menghasilkan protease. *Rhizopus oryzae* tumbuh optimum pada kisaran pH 6-7,5. Secara umum jamur juga membutuhkan air untuk pertumbuhannya, tetapi kebutuhan air untuk jamur lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri. Selain pH dan kadar air, jumlah nutrisi dalam bahan juga dibutuhkan oleh jamur (Sorensen dkk, 1986).

Adapun mekanisme untuk mendegradasi asam sianida oleh mikroorganisme diawali dengan proses penguraian linamarin menjadi asam sianida. Linamarin adalah senyawa glikosida sianogenik yang terdapat dalam umbi gadung. Linamarin sebenarnya tidak beracun, tetapi jika bereaksi dengan enzim linamarase akan terhidrolisis menjadi glukosa dan asetonasianohidrin. Selanjutnya asetonasianohidrin akan terurai spontan menjadi aseton dan asam sianida (Hartati et al, 2008).

### III. METODE PENELITIAN

#### III.1. Bahan dan Alat

Jenis umbi gadung yang digunakan adalah umbi gadung yang berasal dari Lumajang, Jawa timur. Bahan yang digunakan adalah reagen Ninhydrin 5%, Dinitrosalicyclic Acid, NPK, dan Gula. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator (WTB Binder BD-115) , Spektrofotometer UV-Vis (Genesys™ 10 UV-series), Kjeldahl (Gerhardt) dan rangkaian alat ekstraksi soxhlete.

#### III.2. Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan proses fermentasi umbi gadung menggunakan *Rhizopus oryzae* untuk menurunkan kadar sianida yang terdapat pada umbi gadung. Prosedur penelitian di bagi menjadi tiga tahapan, yaitu: 1) Persiapan bahan baku umbi gadung, 2) Proses fermentasi umbi gadung, 3) Analisa kandungan sianida pada umbi gadung.

Pada tahap pertama yang merupakan tahap persiapan umbi gadung dikupas kulitnya, dicuci, lalu dipotong kecil dengan ukuran (2 cm x 1 cm x 0,5 cm).. Selanjutnya potongan umbi gadung disterilisasi terlebih dahulu sebelum dilakukan fermentasi.

Pada tahap kedua umbi gadung yang telah disterilisasi dilanjutkan dengan proses fermentasi. Fermentasi dilakukan menggunakan *Rhizopus oryzae* dengan menggunakan nutrisi 5 ml, 7 ml, dan 9 ml yang komposisinya terdiri dari 5 mg pupuk NPK dan 10 mg gula pasir dalam 1 liter akuades. Fermentasi dilakukan pada suhu 36°C selama 5 hari. Selesai fermentasi umbi gadung dicuci terlebih dahulu dan dilanjutkan dengan analisa kandungan sianida.

Pada tahap ketiga, setelah proses fermentasi selesai dilanjutkan dengan analisa kandungan sianida. Kandungan sianida dianalisa setiap hari menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penurunan sianida terbaik dilanjutkan dengan analisa kandungan pati, lemak, dan protein.

#### III.3. Analisa Kandungan Sianida (AOAC, 2002)

Dalam penelitian ini, analisa sianida dilakukan dengan metode spektrofotometri setelah sampel direaksikan dengan reagen ninhydrin yang nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum 485 nm. Reagen ninhydrin bereaksi dengan senyawa sianida membentuk kompleks sianohidrin yang mengubah warna kuning menjadi merah bata.

Analisa sampel dilakukan dengan menimbang sampel yang telah dihaluskan sebanyak 1 gram dan dilarutkan ke dalam 10 ml Natrium karbonat 2% (w/v), kemudian didiamkan selama 10 menit dan disaring. Larutan sampel ekstrak dicampur dengan karbon aktif dan disaring kembali. Larutan sampel ekstrak diambil sebanyak 0,5 ml dan dicampur dengan 2,5 ml reagen Ninhydrin 5% (w/v), kemudian diinkubasi pada suhu 36°C selama 15 menit. Setelah itu, larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 485 nm.

#### III.4. Analisa Kandungan Pati (Sudarmadji dkk. 2007)

Sebanyak 2-5 gram sampel yang telah dihaluskan dicampur dengan 50 ml akuades, kemudian diaduk selama 1 jam. Suspensi yang diperoleh disaring dengan kertas saring, kemudian dicuci dengan 250 ml akuades, lalu filtrat dibuang. Pati yang terdapat pada kertas saring dicuci dengan 10 ml eter, kemudian dicuci lagi dengan 150 ml alkohol 10% untuk membebaskan karbohidrat yang terlarut. Residu pada kertas saring dipindahkan ke Erlenmeyer dengan penambahan 200 ml akuades dan 20 ml larutan HCl 25%, kemudian larutan tersebut dipanaskan pada penangas air mendidih selama 2,5 jam.

Diambil larutan hingga dingin, setelah itu netralkan dengan larutan NaOH 45%, dan encerkan sampai volume 500 ml. Filtrat yang diperoleh disaring dan digunakan untuk analisa glukosa. Filtrat sebanyak 1 ml diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 3 ml reagen DNS. Tabung reaksi dipanaskan di dalam air mendidih selama 15 menit, lalu didiamkan pada suhu ruang. Setelah dingin, sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 506 nm.

#### III.4. Analisa Kandungan Lemak (Sudarmadji dkk. 2007)

Sebanyak 2 gram sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam tabung soxhlete. Tabung soxhlete dan labu lemak dipasang pada alat ekstraksi soxhlete dengan pelarut heksana sebanyak 60 ml, kemudian ekstraksi

dilakukan selama 3 jam. Heksana yang telah mengandung ekstrak lemak dan minyak dipindahkan ke dalam botol timbang yang bersih dan telah diketahui beratnya. Selanjutnya heksana diupkan dengan penangas air dan dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C sampai berat konstan. Berat residu dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat minyak dan lemak.

### III.5. Analisa Kandungan Protein (Sudarmadji et al. 2007)

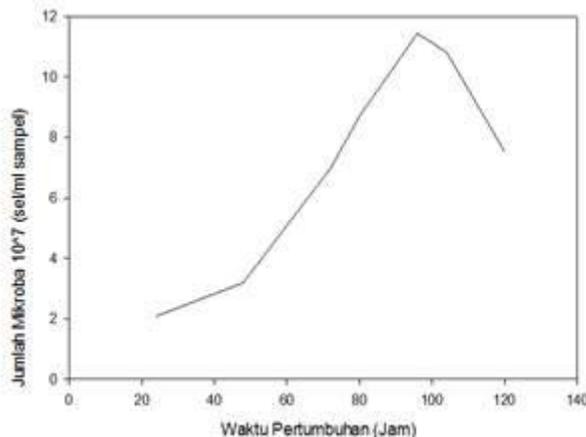
Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, lalu tambahkan 2,5 gram tablet Kjeldahl dan 10 ml larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Sampel dipanaskan pada alat Kjeldahl di dalam lemari asam hingga berhenti berasap, kemudian dipanaskan lagi dengan api besar sampai mendidih dan cairan menjadi jernih, Lakukan pemanasan tambahan sekitar 1 jam, kemudian matikan api pemanas dan tunggu hingga sampel menjadi dingin.

Sampel yang telah dingin dipindahkan dari labu Kjeldahl ke dalam labu leher tiga, kemudian dipasang pada alat destilasi. Setelah itu sampel dicampur dengan 100 ml akuades dingin, dan ditambahkan dengan 50 ml larutan NaOH 50% secara perlahan-lahan. Selanjutnya sampel dipanaskan sampai mendidih dan destilat ditampung dalam Erlenmeyer yang telah diisi dengan 50 ml larutan standar HCl 0,1N dan 5 tetes indikator metil merah. Destilat ditampung hingga volumenya 75 ml. Destilat yang terbentuk dititrasikan dengan larutan standar NaOH 0,1 N hingga warnanya berubah menjadi kuning.

## IV. Hasil Penelitian dan Pembahasan

### IV.1. Kurva Pertumbuhan *Rhizopus oryzae*

Untuk menentukan fase eksponensial, *Rhizopus oryzae* dibiakan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan dilakukan perhitungan menggunakan hemasitometer selama lima hari. Pertumbuhan *Rhizopus oryzae* yang telah dihitung dengan hemasitometer dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Kurva Pertumbuhan *Rhizopus oryzae*

Dari kurva pertumbuhan *Rhizopus oryzae*, dapat dilihat bahwa pada umur 24 – 48 jam merupakan fase lag/adaptasi dari *Rhizopus oryzae*, pada umur 48 - 96 jam merupakan fase eksponensial, umur 96 – 104 jam *Rhizopus oryzae* berada pada fase stasioner, sedangkan pada umur 104 – 120 jam *Rhizopus oryzae* sudah memasuki fase kematian. Maka pada percobaan ini, biakan *Rhizopus oryzae* yang diambil berumur 96 jam yang merupakan fase eksponensial dari *Rhizopus oryzae*.

### IV.2. Kandungan Pati, Protein, dan Lemak Sebelum dan Sesudah Fermentasi

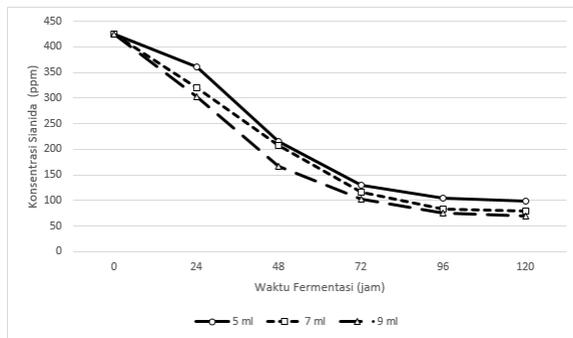
Kandungan pati, lemak, dan protein pada umbi gadung dianalisa sebelum dan sesudah fermentasi. Hasil analisa dapat dilihat pada tabel 1. Dari tabel tersebut, diketahui bahwa kandungan pati pada umbi gadung mengalami penurunan sedangkan kandungan lemak dan protein mengalami peningkatan. Penurunan kadar pati setelah fermentasi terjadi karena kemampuan *Rhizopus oryzae* untuk mensekresikan enzim amylase yang mampu menghidrolisis pati menjadi gula-gula sederhana. Gula inilah yang digunakan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi bagi sel-sel dalam tubuhnya. Dari aktivitas sel yang dilakukan oleh mikroba, ia mampu mensekresikan lemak dan protein sel tunggal, hal inilah yang menyebabkan kandungan lemak dan protein umbi gadung meningkat setelah fermentasi (Obloh dkk.2007).

**Tabel 1.** Kandungan pati, lemak, dan protein sebelum dan setelah fermentasi

Zat	Jumlah (g/g gadung)	
	Sebelum Fermentasi	Setelah Fermentasi
Pati	0,1670	0,1586
Lemak	0,0048	0,0133
Protein	0,0133	0,0263

#### IV.3. Hasil Fermentasi dengan 5 ml, 7 ml, dan 9 ml Nutrien

Hasil penurunan setelah fermentasi selama 5 hari dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Kurva Penurunan Sianida

Dari Gambar 2 terlihat bahwa sianida mengalami penurunan dari hari ke hari. Hal ini disebabkan karena selama fermentasi, *Rhizopus oryzae* menghasilkan enzim linamarase yang mampu mengubah linamarin pada umbi gadung menjadi aseton dan asam sianida. Asam sianida ini dapat dihilangkan dengan mudah melalui penguapan, karena titik didihnya 26,5°C. Pada hari keempat dan kelima, penurunan sianida sudah mulai konstan, karena *Rhizopus oryzae* sudah memasuki fase kematian sehingga ia tidak mampu lagi menghasilkan enzim linamarase untuk mendegradasi linamarin menjadi asam sianida.

Dari hasil penelitian, penurunan sianida terbaik terdapat pada fermentasi dengan 9 ml nutrisi. Dengan 9 ml nutrisi, didapatkan hasil akhir kandungan sianida pada umbi gadung sebesar 69,48 ppm. Hasil ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa kandungan sianida yang mampu ditoleransi oleh tubuh manusia < 100 ppm (Subarkah, C. Z, 2013).

Penurunan sianida pada nutrisi 9 ml lebih baik dibandingkan dengan nutrisi 5 ml dan 7 ml karena jumlah *Rhizopus oryzae* yang terdapat dalam nutrisi 9 ml lebih banyak daripada nutrisi 5 ml dan 7 ml. Semakin banyak jumlah *Rhizopus oryzae* yang terdapat pada nutrisi maka enzim linamarase yang dihasilkan juga semakin banyak, sehingga kandungan sianida yang dapat diturunkan juga lebih banyak.

#### V. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil fermentasi umbi gadung aman dikonsumsi oleh manusia, karena kandungan sianida yang terdapat dalam umbi gadung setelah fermentasi sudah kurang dari 100 ppm, yaitu sebesar 69,48 ppm. Selain itu, kandungan lemak dan protein pada umbi gadung juga meningkat, sehingga hasil fermentasi umbi gadung dapat dijadikan sebagai bahan pangan yang baik.

#### Daftar Pustaka

- AOAC, **Food Chemistry** vol 77. Champaign, IL, USA: AOCS Press, 2002
- Department of Interior U.S., **Cyanide Fact Sheet. Bureau of Reclamation, Technical Service Center, Water Treatment Engineering and Research Group**, 2001, pp. 1–4
- Hartati, I, Kurniasari, L, Yulianto M.E, **Inaktivasi Enzimatis pada Produksi Linamarin dari Daun Singkong Sebagai Senyawa Antineoplastik**. Jurnal Momentum vol. 4, No. 2, hal 1 – 6, 2008
- Obloh, G. dan Elusiyani, C.A., **Changes in the nutrient and anti-nutrient content of micro-fungi fermented cassava flour produced from low- and medium-cyanide variety of cassava tubers**, African Journal of Biotechnology 2007 Vol.6 (18), pp. 2150-2157

- Rahayu, S, **Blanching dan Perendaman Gadung untuk Mengubah Kadar HCN dan Dioskorin Criping Gadung**, Scientific Journal of Agriculture Science, vol.11, hal 38-47, 2009
- Sorensen and Hesseltine, **Validation of an in Vivo Development Toxicity Screen in the Mouse**. Teratol. Mutagen. 6:361-374, 1986
- Subarkah, C. Z, **Pengaruh Zat Sianida Bagi Kehidupan Manusia**, Tugas Akhir Jurusan Pendidikan Kimia, Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati, Bandung, hal 3, 2013
- Sudarmadji, S., Haryono B. dan Suhardi, **Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian**, hal 67 – 83, Liberty, Yogyakarta, 2007
- Tanyildizi M. S., Dursun Ozer dan Murat Elibol, **Production of bacterial  $\alpha$ -amylase by *B. amyloliquefaciens* Under Solid Substrate Fermentation**, Biochemical Engineering Journal 2007 volume 37, Issue 3 pages 297