

**OPTIMASI SUHU DAN LAMA FERMENTASI
TEPUNG KACANG NAGARA (*Vigna Unguiculata* ssp. *Cylindrica*) MENGGUNAKAN *Lactobacillus plantarum* DENGAN *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY* (RSM)**

**OPTIMIZATION OF TEMPERATURE AND FERMENTATION DURATION OF NAGARA BEAN
FLOUR (*Vigna Unguiculata* ssp. *Cylindrica*) USING *Lactobacillus plantarum* WITH *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY* (RSM)**

Susi^{1)*}, Lya Agustina¹⁾, Condro Wibowo²⁾, Alia Rahmi¹⁾, Umar Dani Anshory¹⁾

¹⁾Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat
Jl. A Yani KM 36 Banjarbaru Kalimantan Selatan 70714
Email: susi_tip@ulm.ac.id

²⁾Program Studi Ilmu dan Teknologi pangan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah Indonesia

Makalah: Diterima 10 Juli 2018; Diperbaiki 7 November 2018; Disetujui 17 Desember 2018

ABSTRACT

Nagara bean (Vigna Unguiculata ssp. Cylindrica) is local food ingredients that has the potential to be developed for food diversification because it predominantly contains carbohydrates (50-60%) and protein (20-25%). Previous research showed that fermentation of nagara bean with Lactobacillus plantarum at room temperature can improve the characteristic of nagara bean flour. The research was aimed to optimize the temperature and fermentation duration of nagara bean by L. plantarum for modification of nagara bean flour using the Response Surface Methodology (RSM) method. Fermentation using L. plantarum bacteria as much as 1% (v/v) on nagara bean grits using a ratio of nagara bean and soaking water = 1: 4. The research factor used was periods and soaking temperature with each center point 48 hours and 37 °C respectively. The result of research showed that the optimum temperature and fermentation durations were 39.14°C and 49.71 hours with the result in water absorption index (IPA) of 2.03, swelling power of 5.13 g/g and protein content of 25.60% while factor (treatment) temperature and fermentation duration did not give significant effect to density, insoluble solid, moisture content, ash content, fat content and carbohydrate content.

Keywords: Nagara bean, fermentation, Lactobacillus plantarum, Response Surface Methodology

ABSTRAK

Kacang nagara (*Vigna Unguiculata* ssp. *Cylindrica*) merupakan pangan lokal yang potensial dikembangkan sebagai wujud diversifikasi pangan karena dominan mengandung karbohidrat (50-60%) serta protein (20-25%). Penelitian terdahulu menunjukkan fermentasi kacang nagara dengan *Lactobacillus plantarum* pada suhu ruang mampu meningkatkan karakteristik tepung kacang nagara. Penelitian ini bertujuan melakukan optimasi lama dan suhu fermentasi kacang nagara menggunakan *L. plantarum* untuk modifikasi tepung kacang nagara dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM). Fermentasi menggunakan bakteri laktat *L. plantarum* sebanyak 1% (v/v) pada grits kacang nagara menggunakan perbandingan kacang nagara dan air perendam = 1:4 dengan RSM. Faktor penelitian yang digunakan lama dan suhu perendaman dengan titik tengah (*center point*) masing-masing 48 jam dan 37°C. Hasil penelitian menunjukkan lama dan suhu fermentasi optimum pada lama fermentasi 49,71 jam dan suhu fermentasi 39,14°C dengan menghasilkan indeks penyerapan air (IPA) sebesar 2,03, *swelling power* sebesar 5,13 g/g dan kadar protein sebesar 25,60%. Faktor (perlakuan) lama dan suhu fermentasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap densitas kamba, padatan tidak larut, kadar air, kadar abu, kadar lemak dan kadar karbohidrat.

Kata kunci: Kacang nagara, fermentasi, *Lactobacillus plantarum*, *Response Surface Methodology*

PENDAHULUAN

Kebijakan percepatan Penganekaragaman Konsumsi Pangan Berbasis Sumber Daya Lokal yang tertulis dalam Peraturan Presiden RI Nomor 22 tahun 2009 merupakan strategi untuk mengatasi ketergantungan masyarakat terhadap jenis bahan pangan pokok beras dan terigu. Bentuk kebijakan yang dilakukan yaitu melalui program percepatan diversifikasi konsumsi pangan. Salah satu bahan pangan lokal yang dominan mengandung protein

serta karbohidrat yang tinggi adalah kacang nagara, oleh karena itu kacang nagara dapat dijadikan sumber karbohidrat non beras berbasis sumberdaya lokal.

Kelemahan dari kacang-kacangan adalah adanya kandungan senyawa anti gizi yang sebagian besar didominasi oleh asam fitat (Astawan, 2009) dan bau langu yang mengakibatkan produk akhir menjadi kurang diterima masyarakat. Asam fitat akan membentuk ikatan kompleks dengan zat besi atau mineral lain, seperti seng, magnesium, dan

kalsium, menjadi bentuk yang tidak larut dan sulit diserap tubuh (Suhanda, 2009). Kandungan antigizi maupun bau langu dapat berkurang atau dihilangkan melalui proses perendaman, pemanasan maupun fermentasi. Secara tradisional, proses fermentasi banyak digunakan untuk proses produksi tepung dan adonan dari umbi-umbian dan sereal pada skala rumah tangga di Afrika.

Fermentasi produk pangan banyak melibatkan bakteri asam laktat, salah satunya *Lactobacillus plantarum*. Bakteri *L. plantarum* memiliki aktivitas amilase yang mampu mendegradasi pati yang ada pada bahan pangan menjadi asam laktat maupun monosakarida yang akan lebih mudah untuk dimanfaatkan oleh tubuh dan meningkatkan penggunaan pati. (Nowroozi *et al.*, 2004). Menurut Bergey dan Boone (2009) *L. plantarum* dapat memfermentasi karbohidrat seperti amygdalin, sellobiosa, esculin, glukonat, mannitol, melibiose, rafinosa, ribose, sorbitol, sukrosa, dan xilosa hingga 90%. Bakteri asam laktat amilolitik banyak digunakan untuk memperoleh produk sereal kaya energi melalui peningkatan pati yang mudah tercerna (Nguyen *et al.*, 2007). Fermentasi menggunakan *L. plantarum* dapat meningkatkan *swelling power* dan kelarutan serta kandungan pati singkong (Putri *et al.*, 2011), memiliki kandungan protein lebih tinggi jika dibandingkan fermentasi menggunakan *S. cereviceae* dan *R. oryzae* (Gunawan, 2015).

Susi *et al.* (2015) telah melakukan modifikasi tepung kacang nagara sebagai bahan baku beras analog melalui fermentasi spontan dan menggunakan *Lactobacillus plantarum* dengan variasi perlakuan lama perendaman dan ukuran kacang nagara yang dilakukan pada suhu ruang. Hasil fermentasi tepung kacang nagara menunjukkan bahwa fermentasi menggunakan *L. plantarum* pada lama perendaman 48 jam cenderung mampu menghasilkan kualitas tepung yang lebih baik. Fermentasi tepung kacang nagara mampu meningkatkan kandungan protein dari 17% menjadi 24% serta menghasilkan daya cerna pati 82,69%. Proses fermentasi kacang nagara dengan *L. plantarum* dapat dioptimalkan dengan meningkatkan suhu fermentasi menjadi 37°C karena suhu tersebut merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan *L. plantarum*. Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu penelitian dengan menggunakan model matematika yang menyatakan hubungan kombinasi perlakuan lama dan suhu perendaman selama fermentasi sehingga dapat diketahui kondisi modifikasi tepung kacang nagara melalui fermentasi *Lactobacillus plantarum* yang menghasilkan karakteristik tepung kacang nagara yang optimum. Salah satu metode yang dapat dipilih adalah menggunakan *Response Surface Methodology (RSM)*.

Penelitian ini bertujuan menentukan lama dan suhu fermentasi optimum menggunakan *Lactobacillus plantarum* untuk modifikasi tepung

kacang nagara dengan metode RSM untuk mendapatkan sifat fisikokimia indeks penyerapan air, *swelling power* dan kandungan protein yang terbaik.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah kacang nagara dari daerah Nagara Kabupaten Hulu Sungai Selatan, bakteri *Lactobacillus plantarum* 1% (v/v), aquades, kloroform, K₂SO₄, CuSO₄, H₂SO₄, H₂O₂, Na₂(SO₄)₃ dan HCl. Alat-alat yang digunakan adalah *disc mill*, neraca analitik, *water bath*, *autoclave*, oven, saringan dengan ukuran 80 mesh, sentrifuge, gelas ukur, gelas beaker, cawan porselen, tanur, labu kjeldahl, labu lemak, soxhlet, reflux dan *Software Minitab 17*.

Penentuan Respon, Faktor dan Titik Tengah (Center Point)

Data yang digunakan untuk menentukan titik tengah dalam penelitian ini merupakan data sekunder hasil penelitian modifikasi tepung kacang nagara melalui fermentasi bakteri asam laktat yang dilakukan oleh Susi *et al.* (2015b). Selain itu beberapa penelitian terkait pemanfaatan bakteri *Lactobacillus plantarum* juga dijadikan data dalam penelitian ini yaitu penelitian Afriani (2010); Mangalisu *et al.* (2015) dan Nurani *et al.* (2013) untuk menentukan faktor penelitian yaitu lama dan suhu perendaman dengan titik tengah (*center point*) masing-masing 48 jam dan 37°C (rancangan faktor perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1). Respon dalam penelitian ini adalah kualitas fisik mencakup densitas kamba, indeks penyerapan air, *swelling power* dan bagian tidak larut air serta kimia mencakup kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein dan kadar karbohidrat.

Fermentasi Bakteri Asam Laktat Kacang Nagara

Fermentasi menggunakan bakteri laktat *L. plantarum* dengan jumlah 8,8 x 10⁶ CFU/mL yang ditambahkan sebanyak 1% (v/v) padagrins kacang nagara menggunakan perbandingan kacang nagara : air perendam = 1:4. dengan lama fermentasi 48 jam. Kacang nagara hasil fermentasi dicuci bersih dan dihilangkan dari kulitnya kemudian dikeringkan pada suhu 60°C selama 48 jam. Kacang nagara hasil fermentasi ditepungkan dengan ukuran 80 mesh.

Densitas Kamba (Adeleke dan Odejeji, 2010)

50 gram sampel dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 mL dan dicatat volume tetapnya. Densitas kamba dinyatakan dalam satuan g/cm³ atau g/mL.

$$\text{Densitas kamba} = \frac{\text{berat sampel}}{\text{volume sampel}}$$

Tabel 1. Rancangan faktor perlakuan

Run	Faktor Kode		Faktor Aktual	
	X1	X2	Lama Fermentasi (jam)	Suhu Fermentasi (°C)
1	-1	-1	24	27
2	1	-1	72	27
3	-1	1	24	47
4	1	1	72	47
5	-1,414	0	14,05	37
6	1,414	0	81,94	37
7	0	-1,414	48	22,85
8	0	1,414	48	51,14
9	0	0	48	37
10	0	0	48	37
11	0	0	48	37
12	0	0	48	37
13	0	0	48	37

Indeks Penyerapan air (Muchtadi *et al.*, 1988)

Sebanyak 1 g sampel yang sudah ditepungkan (A) dimasukkan dalam tabung sentrifus, setelah itu ditambah 10 mL aquades dan diaduk dengan menggunakan vibrator sampai semua bahan terdispersi secara merata. Tabung selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm pada suhu ruang selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dituang secara hati-hati ke dalam wadah lain, sedangkan tabung sentrifus beserta residunya dipanaskan dalam oven. Tabung diletakkan dalam oven yang diatur pada suhu 50°C selama 25 menit. Akhirnya tabung residu ditimbang untuk menentukan berat air yang terserap (B).

$$\text{Indeks penyerapan air } g/g = \frac{\text{berat air yang terserap (g)}}{\text{berat awal (g)}}$$

Swelling Power (Adeleke dan Odejeji, 2010)

Ditimbang bahan sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam gelas beker, kemudian ditambahkan 15 mL air dan dipanaskan pada suhu 80-85°C selama 40 menit sambil diaduk. Selanjutnya, campuran disentrifus selama 20 menit pada 2200 rpm pada tabung sentrifus yang sudah ditimbang untuk memisahkan antara padatan dengan cairannya. Pasta pati yang diperoleh ditimbang beratnya.

$$\text{Swelling volume } g/g = \frac{\text{berat pasta (g)}}{\text{berat awal (g)}}$$

Bagian Tidak Larut Air (SNI 01-2891-1992)

Ditimbang kurang lebih 20 g sampel, dimasukkan ke dalam gelas beker 400 mL, ditambahkan 200 mL air panas, diaduk hingga larut. Dalam keadaan panas, dituangkan bagian yang tidak larut ke dalam kertas saring yang telah dikeringkan dan ditimbang sebelumnya. Dibilas gelas beker dan kertas saring dengan air panas. Dikeringkan kertas saring dalam oven pada suhu 105°C selama dua jam, didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap.

$$\text{Bagian tidak larut (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = Berat sampel

W1 = Berat kertas saring berisi bagian tidak larut

W2 = Berat kertas saring kosong

Karakteristik kimia dilakukan pengujian terhadap kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein serta kadar karbohidrat *by difference* (AOAC, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN**Densitas Kamba**

Densitas kamba tepung kacang nagara yang dihasilkan berkisar antara 0,62-0,74 g/mL hal ini sesuai dengan pendapat Hastawan dan Hazmi (2016), di mana densitas kamba tepung umumnya berkisar antara 0,40-0,75 g/mL akan tetapi jika dibandingkan dengan tepung kacang hijau yang dihasilkan Nurhidajah *et al.* (2010) dengan densitas kamba berkisar 0,86-0,90 g/mL, densitas kamba tepung kacang nagara yang dihasilkan relatif lebih kecil. Bahan dengan densitas kamba yang kecil akan membutuhkan tempat yang lebih luas dibandingkan dengan bahan dengan densitas kamba yang besar untuk berat yang sama sehingga tidak efisien dari segi tempat penyimpanan dan kemasan (Ade-Omowaye *et al.*, 2008).

Hasil optimasi menggunakan RSM menunjukkan bahwa tidak satupun model baik linear maupun *square* (kuadratik) yang tepat untuk respon densitas kamba. Hal ini dilihat dari nilai *p-value* untuk model linier maupun *square* lebih besar dari $\alpha = 5\%$, menunjukkan bahwa faktor-faktor (variabel bebas) yaitu lama (x_1) dan suhu fermentasi (x_2) tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon yaitu densitas kamba sehingga tidak dapat ditentukan lama dan suhu optimum yang dapat mengoptimalkan densitas kamba. Model yang diperoleh untuk densitas kamba (y) adalah:

$$y = 1,019 - 0,00619 x_1 - 0,0109 x_2 + 0,000025 x_{12} + 0,000090 x_{22} + 0,000079 x_1 x_2$$

Densitas kamba merupakan bobot massa tepung per satuan volume, densitas tepung kacang nagara hasil fermentasi menunjukkan tidak signifikan berbeda dengan demikian perbedaan suhu dan fermentasi yang dikenakan pada proses fermentasi tidak cukup banyak berpengaruh terhadap nilai densitas Kamba tepung yang dihasilkan.

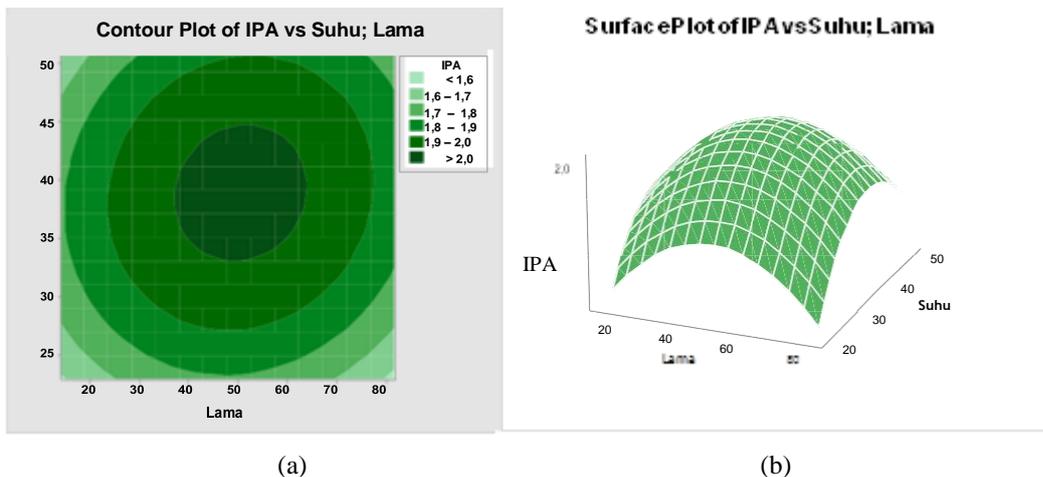
Indeks Penyerapan Air (IPA)

Indeks penyerapan air (IPA) menunjukkan kemampuan produk untuk mengikat air. Model yang tepat untuk respon IPA adalah *square* (kuadratik). Hal ini dilihat dari nilai *p-value* untuk model linier lebih besar dari $\alpha = 5\%$ yaitu 0,385 sedangkan *p-value* untuk model *square* adalah 0,006 atau lebih kecil dari $\alpha = 5\%$. Untuk kecocokan model, dapat dilihat *p-value* dari model dimana nilai *p-value* = 0,028 lebih kecil dari derajat signifikansi $\alpha = 5\%$, hal ini berarti faktor-faktor (variabel bebas) memberikan pengaruh yang berarti dalam model sedangkan *p-value lack-of-fit* lebih besar dari $\alpha = 5\%$ yaitu 0,132 artinya tidak ada ketidaksesuaian dalam model. Model yang diperoleh untuk indeks penyerapan air (y) adalah:

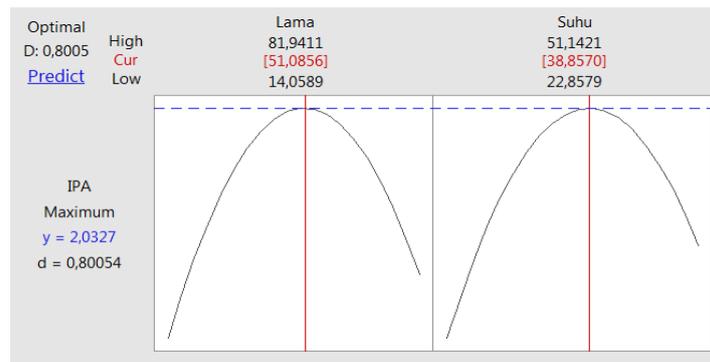
$$y = 0,255 + 0,01566 x_1 + 0,0711 x_2 - 0,000183 x_1^2 - 0,000965 x_2^2 + 0,000074 x_1 x_2$$

Berdasarkan persamaan diatas, faktor tunggal nya x_1 (lama fermentasi) dan x_2 (suhu fermentasi) memberikan pengaruh positif. Interaksi kuadratik yakni x_{12} dan x_{22} merupakan interaksi antagonis dimana untuk fungsi kuadratik pada lama (x_1) dan suhu fermentasi (x_2) lebih besar dari kondisi optimumnya akan menurunkan nilai IPA, sedangkan interaksi antar 2 faktor yaitu $x_1 x_2$ merupakan interaksi sinergis.

Grafik *contour* dan grafik *surface* hasil plot antara lama dan suhu fermentasi dengan IPA disajikan pada Gambar 1a dan Gambar 1b. Gambar 1a menunjukkan *plot contour* yang dihasilkan terdiri dari berbagai variasi warna. Dimana masing-masing variasi menunjukkan *range* besarnya respon yang dihasilkan. Range warna inilah yang akan memberigaris besar petunjuk letak titik optimum variabel. Kondisi paling maksimal untuk plot di atas berada di warna hijau tua dengan nilai IPA di atas 2. Gambar 1b menunjukkan *plot surface* dalam tiga dimensi. Respon yang optimal dari kombinasi level-level variabel proses ditentukan dengan menggunakan grafik hasil *response optimizer* yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. a. *Contour Plot* IPA dan (b) *Surface Plot* IPA dengan suhu dan lama fermentasi



Gambar 2. Hasil grafik *response optimizer* untuk IPA

Gambar 2 menunjukkan lama dan suhu optimum adalah pada lama fermentasi 51,08 jam dengan suhu 38,85°C dengan menghasilkan IPA sebesar 2,03 g/g. Pada kondisi fermentasi tersebut diduga *Lactobacillus plantarum* optimal untuk memproduksi protease. Fermentasi dapat meningkatkan penyerapan air di mana selama fermentasi aktivitas proteolitik mikroorganisme memiliki peran penting dalam penambahan gugus polar. Penambahan gugus polar menyebabkan peningkatan hidrofilitas tepung protein (Etudaiye *et al.*, 2009). Pada lama fermentasi lebih dari 51,08 jam, diduga senyawa-senyawa yang memiliki gugus polar hasil pemecahan molekul protein mulai terdegradasi dan larut dalam air perendaman sehingga terjadi penurunan penyerapan air.

Swelling Power

Daya pembengkakan (*swelling power*) adalah kekuatan tepung untuk mengembang. Pada respon *swelling power* nilai *p-value* untuk model linier lebih besar dari $\alpha = 5\%$ yaitu 0,150 sedangkan *p-value* untuk model *square* adalah 0,006 atau lebih kecil dari $\alpha = 5\%$ sehingga dapat disimpulkan bahwa model yang tepat untuk respon densitas kamba adalah *square* (kuadratik). Untuk kecocokan model, dapat dilihat *p-value* dari model = 0,021 lebih kecil dari derajat signifikansi $\alpha = 5\%$, hal ini berarti faktor-faktor (variabel independen) memberikan pengaruh yang berarti dalam model sedangkan *p-value lack-of-fit* lebih besar dari $\alpha = 5\%$ yaitu 0,283 artinya tidak ada ketidaksesuaian dalam model. Model yang diperoleh dari percobaan untuk *swelling power*(y) adalah:

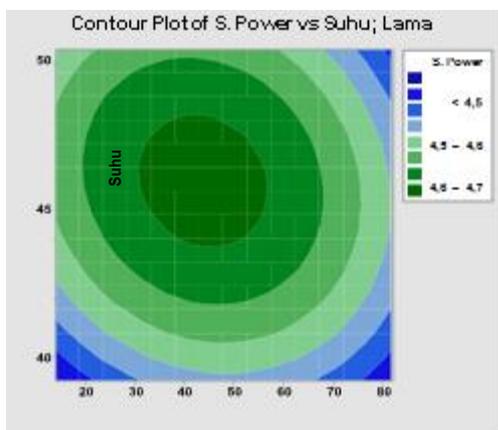
$$y = 2,391 + 0,02671 x_1 + 0,1085 x_2 - 0,000240 x^2 - 0,001283 x^2 - 0,000140 x_1x_2$$

Berdasarkan persamaan diatas, x_1 (lama) dan x_2 (suhu fermentasi) memberikan pengaruh positif, peningkatan suhu dan lama akan meningkatkan swelling volume, namun interaksi kuadratik yakni x_1 dan x_2 serta interaksi antar 2 faktor yaitu x_1x_2 merupakan interaksi antagonis, meningkatnya interaksi suhu dan lama fermentasi akan cenderung menurunkan swelling volume tepung kacang nagara hasil fermentasi *L. plantarum*.

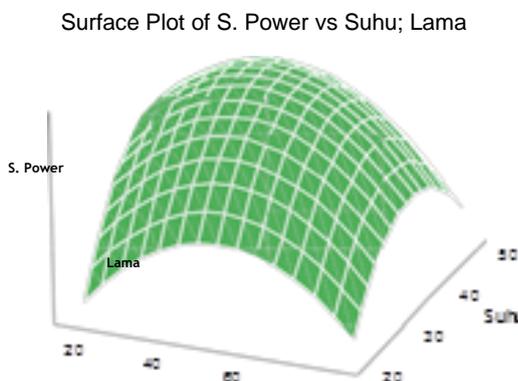
Grafik *contour* dan grafik *surface* hasil plot antara *swelling power* dengan lama dan suhu fermentasi disajikan pada Gambar 3a dan Gambar 3b.

Berdasarkan Gambar 3a, kondisi paling maksimal untuk plot diatas berada di warna hijau tua dengan nilai *swelling power* diatas 5,1 sedangkan Gambar 3b menunjukkan *plot surface* dalam tiga dimensi. Respon yang optimal dari kombinasi level-level variabel proses ditentukan dengan grafik hasil *response optimizer* yang disajikan pada Gambar 4. Gambar 4 menunjukkan bahwa lama dan suhu fermentasi optimum adalah pada lama fermentasi 44,24 jam dengan suhu 39,71°C dengan menghasilkan *swelling power* sebesar 5,14 g/g.

Swelling power mengindikasikan banyaknya jumlah air yang diserap oleh granula pati. *Swelling power* sering berkaitan dengan kandungan protein dan patinya, menurut Winarno (1992) pengembangan volume juga dapat dipengaruhi oleh kadar amilosa tepung yang digunakan. Kadar amilosa yang tinggi akan meningkatkan absorpsi air. Amilosa mempunyai struktur yang lurus dan rapat sehingga mudah menyerap air. Menurut Susi *et al.* (2015b) bahwa proses fermentasi kacang nagara menggunakan *L. plantarum* menyebabkan peningkatan kadar amilosa tepung kacang nagara 20,48% bk menjadi 24,02% bk.

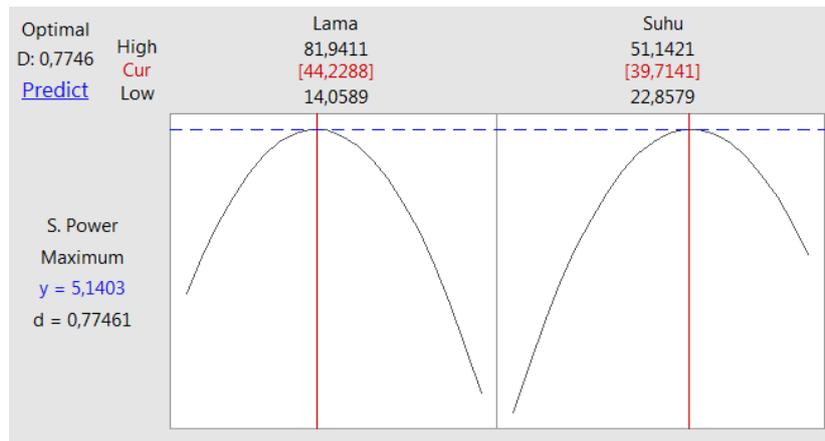


(a)



(b)

Gambar 3. (a). *Contour Plot Swelling power*, (b). *Surface Plot Swelling power* dengan suhu dan lama fermentasi



Gambar 4. Hasil grafik *response Optimizer* untuk *Swelling Power*

Padatan Tidak Larut

Padatan tidak larut berkaitan dengan tingkat kelarutan. Padatan tidak larut air yang tinggi menunjukkan bahwa kelarutan rendah. Dari uji parameter regresi diperoleh $p\text{-value} = 0,038$ atau kurang dari derajat signifikansi $\alpha = 5\%$, hal ini menunjukkan faktor-faktor (variabel bebas) memberi pengaruh yang nyata pada respon. Pada pengujian kesesuaian model dilakukan dengan menggunakan uji *Lack-of-Fit*. Hipotesis yang digunakan yaitu:

- H_0 = Tidak ada lack-of-fit dalam model orde I
- H_1 = Ada lack-of-fit dalam model orde I

Dari hasil analisa data diperoleh *lack-of-fit* signifikan ($p\text{-value} > \alpha$) = 0,957 sehingga H_0 diterima, artinya terdapat kesesuaian model. Karena kedua parameter uji signifikansi terpenuhi, maka model dinyatakan cocok (linear). Model untuk padatan tidak larut (y) yang diperoleh adalah:

$$y = 78,39 + 0,1453 x_1 - 0,023 x_2$$

Berdasarkan model diatas, terlihat lama fermentasi berbanding lurus dengan padatan tidak larut, semakin lama proses fermentasi, semakin meningkat padatan tidak larut pada tepung. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa fermentasi hingga 120 jam menurunkan kelarutan padatan dari 20,52% menjadi 5,91%.

Peningkatan padatan tidak larut dapat terjadi karena penurunan kadar zat padat terlarut. Kadar zat padat terlarut terkait erat dengan kadar gula reduksi dalam suatu bahan. Gula reduksi mempunyai kelarutan yang tinggi sehingga akan meningkatkan kadar zat padat terlarut dalam suatu larutan. Diduga selama fermentasi kacang nagara dengan *Lactobacillus plantarum* terjadi penurunan kadar gula reduksi pada kacang nagara yang disebabkan oleh pemanfaatan gula reduksi sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel serta pembentukan metabolit selama fermentasi.

L. plantarum menghasilkan enzim-amilase, tepung kacang nagara yang mengalami *enzymatic digestion* oleh $\alpha\text{-amilase}$ selama 90 menit terjadi penurunan kadar gula reduksi dari 2,03 mg/mL menjadi 1,86 mg/mL (Susi *et al.*, 2017).

Tepung kacang nagara yang selain gula reduksi, protein juga merupakan bagian zat padat terlarut. Pada fermentasi kacang nagara dengan *Lactobacillus plantarum* yang dilakukan Susi *et al.* (2015b), terjadi kecenderungan penurunan nilai protein terlarut dengan semakin lamanya fermentasi yang dilakukan. Kelarutan protein sangat dipengaruhi oleh pH isoelektriknya. Selama fermentasi, *Lactobacillus plantarum* menghasilkan asam laktat sehingga akan terjadi perubahan pH seiring lamanya fermentasi. Pada saat protein mencapai pH isoelektriknya, protein akan mengalami pengendapan (koagulasi) dan menurunkan kelarutannya (Sirajuddin dan Najamuddin, 2011).

Kadar Air

Kadar air suatu produk sangat penting dikendalikan karena akan menentukan daya tahan atau keawetan produk yang bersangkutan pada waktu penyimpanan. Kerusakan bahan makanan pada umumnya merupakan proses mikrobiologis, kimiawi, enzimatis atau kombinasi antara ketiganya. Berlangsungnya ketiga proses tersebut memerlukan air bebas yang dapat membantu berlangsungnya proses tersebut.

Menurut Phattra dan Maweang (2015), proses fermentasi mampu mengubah granula pati menjadi lebih kasar dan memiliki permukaan yang porous karena ekso korosi oleh hidrolisis enzim yang menyerang permukaan dan membentuk pori serta terjadi degradasi bagian luar granula. Hal ini diduga berkorelasi dengan mudahnya air bebas dari matriks tepung untuk menguap pada saat pengeringan karena makin banyak pori yang terbentuk selama proses fermentasi.

Berdasarkan hasil ANOVA tidak satupun model baik linear maupun square (kuadratik) yang tepat untuk respon kadar air. Hal ini dilihat dari nilai p-value untuk model linier maupun square lebih besar dari $\alpha = 5\%$, ini menunjukkan faktor-faktor (variabel bebas) yaitu lama dan suhu fermentasi tidak memberikan pengaruh yang berarti terhadap kadar air sehingga kadar air tepung kacang nagara hasil fermentasi menggunakan *L. plantarum* tidak dapat dioptimalkan dengan perlakuan lama dan suhu fermentasi. Model yang diperoleh dari percobaan orde II untuk kadar air (y) adalah:

$$y = 14,33 - 0,1581 x_1 - 0,139 x_2 + 0,000346 x^2 + 0,00009 x^2 + 0,003351 x_1x_2$$

Kadar abu tepung kacang nagara yang dihasilkan berkisar antara 1,11-3,04% cenderung lebih kecil dari pada kadar abu kacang nagara segar yaitu 3,35%. Menurut Aini *et al.* (2009), selama fermentasi akan terjadi penurunan kadar abu yang disebabkan lepasnya mineral pada waktu perendaman, yaitu terjadi *leaching* sebagian mineral dalam bentuk ion bebas pada air perendaman.

Kadar Lemak

Hasil uji parameter regresi diperoleh p-value = 0,008 atau kurang dari derajat signifikansi $\alpha = 5\%$, hal ini menunjukkan faktor-faktor (variabel bebas) memberi pengaruh yang nyata pada respon. Akan tetapi berdasarkan koefisien regresi linear secara individu, hanya faktor lama fermentasi yang memberi pengaruh terhadap model karena p-value suhu fermentasi lebih dari derajat signifikansi $\alpha = 5\%$ yaitu 0,497 sehingga suhu fermentasi tidak mempengaruhi kadar lemak. Pada pengujian kesesuaian model dilakukan dengan menggunakan uji *lack-of-fit*. Hipotesis yang digunakan:

- H0 = Tidak ada lack-of-fit dalam model orde I
- H1 = Ada lack-of-fit dalam model orde I

Dari hasil analisa data diperoleh lack -of-fit tidak signifikan (p-value > α) = 0,338 sehingga H0 diterima, artinya terdapat kesesuaian model.

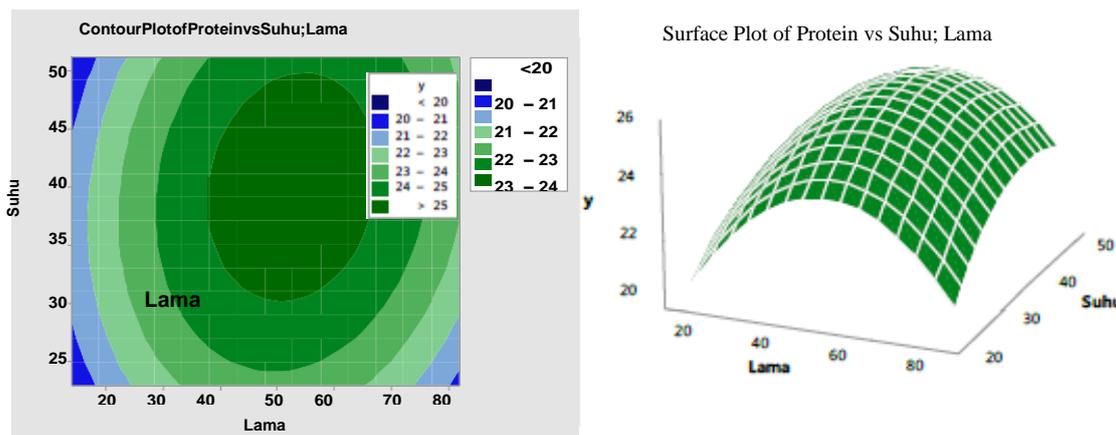
Karena kedua parameter uji signifikansi terpenuhi, maka model yang terpilih untuk kadar lemak (y) adalah linier yaitu:

$$y = 6,81 - 0,0495 x_1 - 0,0177 x_2$$

Berdasarkan model diatas terlihat bahwasanya lama maupun suhu fermentasi memberikan pengaruh antagonis (berbanding terbalik) pada kadar lemak tepung kacang nagara hasil fermentasi menggunakan *L. plantarum*. Semakin lama fermentasi dan meningkatnya suhu fermentasi akan berpengaruh terhadap semakin rendahnya kadar lemak tepung kacang nagara yang dihasilkan. Kadar lemak kacang nagara segar adalah 5,64% sedangkan kadar lemak tepung kacang nagara yang dihasilkan cenderung lebih rendah yaitu 2,8% - 5,53%. Menurut Pangastuti *et al.* (2013) perendaman selama fermentasi dapat mengaktifkan aktivitas enzim lipase yang menghasilkan beberapa asam lemak bebas rantai pendek yang mudah larut ke dalam air pada media perendaman sehingga terjadi penurunan kadar lemak.

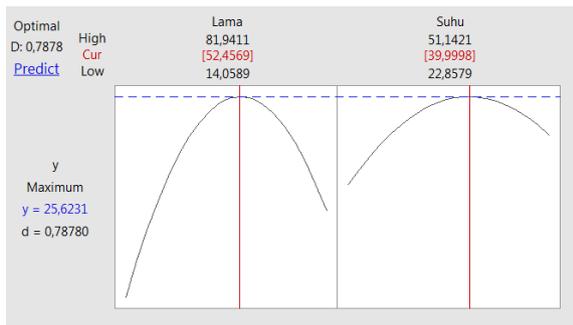
Kadar Protein

Pada umumnya kadar protein di dalam bahan pangan menentukan mutu bahan pangan itu sendiri terutama pada kacang-kacangan sebagai sumber protein nabati. Di samping berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh, protein juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur serta sebagai imunitas dalam tubuh. Grafik contour dan grafik surface hasil plot antara protein dengan lama dan suhu fermentasi disajikan pada Gambar 5a dan Gambar 5b. Pada Gambar 5a, kondisi paling maksimal untuk plot berada di warna hijau tua dengan nilai kadar protein di atas 25%, sedangkan Gambar 5b menunjukkan plot surface dalam tiga dimensi dimana besarnya faktor variabel independen x1 (lama fermentasi) dan x2 (suhu fermentasi) yang mengoptimalkan respon tidak terlihat jelas karena hasil yang diperoleh berupa range data yang cukup besar.



Gambar 5. (a). Contour Plot kadar protein dan (b). Surface Plot dengan suhu dan lama fermentasi

Kombinasi level-level variabel proses yang dapat menghasilkan respon yang optimal ditunjukkan pada grafik hasil *response optimizer* yang disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik *response optimizer* untuk kadar protein

Gambar 6 menunjukkan bahwa lama dan suhu fermentasi optimum adalah pada lama fermentasi 52,45 jam dengan suhu 40°C dengan menghasilkan kadar protein sebesar 25,62%. Menurut Tandrianto (2014) peningkatan jumlah protein pada pembuatan MOCAF dengan *Lactobacillus plantarum* disebabkan oleh adanya penambahan jumlah mikroorganisme yang berperan sebagai *Single cell protein* (SCP), yaitu protein yang didapat dari mikroorganisme. Hal ini sesuai dengan pendapat Nurhayani *et al.* (2000), peningkatan jumlah massa mikroba akan menyebabkan peningkatan kandungan produk fermentasi, dimana kandungan protein merupakan refleksi dari jumlah massa sel dimana dalam proses fermentasi mikroba akan menghasilkan enzim yang akan mendegradasi senyawa-senyawa kompleks menjadi lebih sederhana, dan mikroba juga akan mensintesis protein yang merupakan proses *protein enrichment* yaitu pengkayaan protein bahan.

Selama proses fermentasi, *Lactobacillus plantarum* menghasilkan enzim ekstraseluler (protease). Protease akan menghidrolisis protein menjadi peptida yang sederhana seperti menjadi oligopeptida pendek atau asam amino sehingga protein akan mudah berdifusi dan larut pada air perendaman. Hal ini diduga menyebabkan lama fermentasi lebih dari 52,45 jam terjadi penurunan kadar protein. Asam amino polar yang terdapat pada kacang nagara adalah asam aspartat, asam glutamat, serin, histidin, arginin, threonin, tirosin, sistin dan lisin (Susi *et al.*, 2015a).

Kadar Karbohidrat by Difference

Karbohidrat merupakan komponen utama dalam tepung-tepungan. Menurut Winarno (1992) karbohidrat mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, tekstur dan lain-lain. Berdasarkan hasil ANOVA, tidak satupun model baik linear maupun square (kuadrat) yang tepat untuk respon kadar

karbohidrat. Hal ini dilihat dari nilai p-value untuk model linier maupun square lebih besar dari $\alpha = 5\%$, ini menunjukkan faktor-faktor (variabel bebas) yaitu lama dan suhu fermentasi tidak memberikan pengaruh yang berarti terhadap kadar karbohidrat sehingga kadar karbohidrat tepung kacang nagara hasil fermentasi menggunakan *L. plantarum* tidak dapat dioptimalkan dengan perlakuan lama dan suhu fermentasi. Model yang diperoleh untuk kadar karbohidrat by difference(y) adalah:

$$y = 5,97 + 0,097 x_1 - 0,039 x_2 + 0,001988 x_1^2 + 0,00438 x_2^2 - 0,00672 x_1 x_2$$

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa karbohidrat pada kacang nagara segar 62%, kadar karbohidrat pada tepung kacang nagara hasil fermentasi menggunakan *L. plantarum* yang dihasilkan dari proses optimasi relatif tidak jauh berbeda yaitu berkisar 59,60% - 65,75%.

Beberapa respon tidak cocok dengan model linear ataupun model kuadrat. Hal ini menunjukkan lama dan suhu fermentasi tidak memberi pengaruh nyata terhadap respon. Respon tersebut yaitu densitas kamba, kadar air, kadar abu dan kadar karbohidrat.

Banyak faktor yang terlibat dan mempengaruhi respon selama proses fermentasi diantaranya, enzim, nutrisi dan mikroba. Selain mikroba yang ditambahkan sebagai starter (*Lactobacillus plantarum*), mikroflora alami (indigenous) dari kacang nagara juga terlibat dalam proses fermentasi. Pertumbuhan mikroba dan jenisnya dipengaruhi oleh pH, suhu dan ketersediaan nutrisi. Setiap mikroba memiliki pH optimum yang berbeda-beda, oleh karena itu pH selama fermentasi sangat menentukan mikroba yang dominan selama fermentasi dan selanjutnya akan mempengaruhi enzim yang aktif dan nutrisi yang tersedia/hasil metabolit.

Enzim yang diduga terlibat selama fermentasi kacang nagara dengan *Lactobacillus plantarum* adalah fitase (Saribuga *et al.*, 2014; Sumengen *et al.*, 2013), lipase (Uppada *et al.*, 2017; Lopes *et al.*, 1999), protease (Utami *et al.*, 2015; Matthews *et al.*, 2004), pululanase (Vishnu *et al.*, 2006) dan amilase (Onilude *et al.*, 2017; Sanni *et al.*, 2002). Tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan keasaman berubah (Subagiyo *et al.*, 2016; Peterson *et al.*, 2007). Di luar suhu atau pH yang sesuai, enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau strukturnya akan mengalami kerusakan. Selama proses fermentasi pH berfluktuasi seiring proses fermentasi.

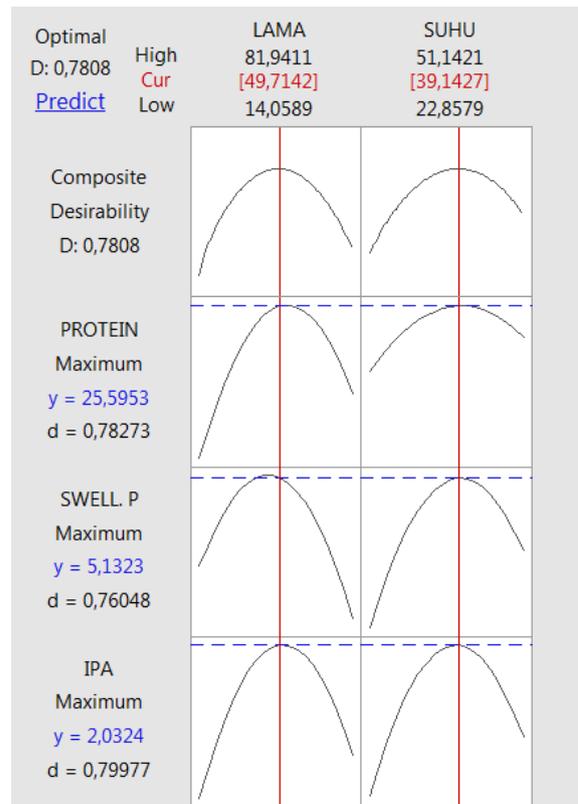
Menurut Kusmiati dan Malik (2002), mikroba dalam kehidupannya membutuhkan makronutrien dan mikronutrien. Salah satu makronutrien yang dibutuhkan adalah sumber

karbon yang berguna untuk tumbuh, berkembang biak, sumber energi dan sebagai cadangan makanan. Jenis dan jumlah sumber karbon sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri yang secara tidak langsung mempengaruhi sintesa metabolit sekunder.

Optimasi Lama dan Suhu Fermentasi untuk menghasilkan Tepung Kacang dengan Kualitas Terbaik

Untuk menentukan kondisi optimal lama dan suhu fermentasi yang menghasilkan tepung kacang nagara dengan kualitas terbaik perlu diperhatikan masing-masing respon yang signifikan terhadap model kuadratik karena hanya respon yang signifikan terhadap model kuadratik yang dapat ditentukan kondisi optimumnya. Kecocokan model masing-masing respon baik fisik maupun kimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, indeks penyerapan air (IPA), *swelling power* dan kadar protein signifikan terhadap model kuadratik sehingga penentuan lama dan suhu fermentasi yang optimum dilakukan dengan menggabungkan ketiga respon tersebut (multi respon) sehingga didapatkan lama dan suhu yang optimal terhadap ketiga respon. Kombinasi level-level variabel proses yang dapat menghasilkan respon IPA, *swelling power* dan kadar protein yang optimal dapat dilihat pada grafik hasil *response optimizer* yang disajikan pada Gambar 7. Pada Gambar 7 ditunjukkan bahwa lama dan suhu fermentasi optimum adalah pada lama fermentasi 49,71 jam dengan suhu 39,14°C dengan menghasilkan IPA sebesar 2,03, *swelling power* sebesar 5,13 dan kadar protein sebesar 25,60%.



Gambar7. Hasil grafik *response optimizer* untuk IPA, *swelling power* dan kadar protein

Pada Gambar 7 ditunjukkan bahwa lama dan suhu fermentasi optimum adalah pada lama fermentasi 49,71 jam dengan suhu 39,14°C dengan menghasilkan IPA sebesar 2,03, *swelling power* sebesar 5,13 dan kadar protein sebesar 25,60%.

Tabel 2. Kecocokan respon terhadap model linear dan kuadratik

Respon	Rentang Nilai Respon	Model		Kondisi Optimum			Kondisi sebelum optimasi ^(a)
		Linear	Kuadratik	Lama (jam)	Suhu (°C)	Nilai Respon	
Kualitas Fisik:							
Densitas Kamba	0,62-0,74 g/mL	TS	TS	-	-	-	0,53
IPA	1,7-2,03	TS	S	51,08	38,85	2,03	1.98
<i>Swelling Power</i>	4,7-5,26	TS	S	44,22	39,71	5,14	7.39
Padatan tidak larut	80,61-88,05%	S	TS	-	-	-	87.98%
Kualitas Kimia:							
Kadar Air	8-9,9%	TS	TS	-	-	-	5,97%
Kadar Abu	1,11-3,04%	TS	TS	-	-	-	-
Kadar Lemak	2,8-5,53%	S	TS	-	-	-	2,18%
Kadar Protein	21,3-26,79%	TS	S	52,45	40	25,62%	20,41%
Kadar KH	59,59-65,75%	TS	TS	-	-	-	74,73%

Keterangan : TS = tidak signifikan; S = signifikan
(a) = Susi et al. (2015)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Lama dan suhu fermentasi optimum menggunakan *Lactobacillus plantarum* untuk modifikasi tepung kacang nagara adalah pada lama fermentasi 49,71 jam dan suhu fermentasi 39,14°C dengan menghasilkan menghasilkan indeks penyerapan air (IPA) sebesar 2,03, *swelling power* sebesar 5,13 dan kadar protein sebesar 25,60%. Namun, variasi lama dan suhu fermentasi tersebut belum mampu mengoptimalkan respon densitas kamba, padatan tidak larut, kadar air, kadar abu, kadar lemak dan kadar karbohidrat karena faktor tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon.

Saran

Disarankan adanya penelitian lanjutan dengan memanfaatkan hasil penelitian ini untuk diolah menjadi produk tertentu ataupun mengkaji substitusi terigu dengan tepung kacang nagara termodifikasi pada kondisi optimum yang didapatkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ade-Omowaye BIO, Akinwande BA, Bolarinwa IF, Adebisi AO. 2008. Evaluation of tigernut (*Cyperus esculentus*)-wheat composite flour and bread. *Africa Journal Food Science*. 2:087-091.
- Adeleke RO dan Odedeji JO. 2010. Functional properties of wheat and sweet Potato flour blends. *Pakistan Journal Nutr*. 9 (6): 535-538.
- Afriani. 2010. Pengaruh penggunaan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap total bakteri asam laktat, kadar Asam dan nilai pH dadih susu sapi. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. XIII (6): 279-285.
- Aini N, Hariyadi P, Muchtadi TR, Andarwulan N. 2009. Hubungan sifat kimia dan rheologi tepung jagung putih dengan fermentasi spontan butiran jagung. [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Akbar MR dan Yuniarta. 2013. Pengaruh lama perendaman $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ dan fermentasi ragi tape terhadap sifat fisik kimia tepung jagung. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2): 91-102.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th Ed., Gaithersburg, MD US: The Association of Official Analytical Chemists.
- Astawan M. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-Bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Bergey DH, dan Boone DR. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. United States of America: The Firmicutes. Springer.
- Etudaiye HA, Nwabuzue TU, dan Sanni LO. 2009. Quality of fufu processed from cassava mosaic disease (CMD) resistant varieties. *African J Food Sci*. 3 (3): 061-067.
- Gunawan. T, Widjaja S, Zullaiqah L, Ernawati N, Istianah W, Apamarta HD, Prasetyoko. 2015. Effect of fermenting cassava with *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cereviceae*, and *Rhizopus oryzae* on the chemical composition of their flour. *Intern. Food Res Journal*. 22 (3) : 1280-1287.
- Kusmiati dan Malik A. 2002. Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pba1 pada berbagai Media. *Jurnal Makara Kesehatan*. 1 (6) :1-7.
- Mangalisu A, Nahariah, dan Hatta W. 2015. Kemampuan fermentasi *Lactobacillus plantarum* pada telur infertil dengan waktu inkubasi yang berbeda. *JITP*. 4 (2): 70-73
- Matthews A, Grimaldi A, Walker M, Bartowsky E, Grbin P, Jiranek V. 2004. Lactic acid bacteria as a potential source of enzymes for use in vinification. *Appl Environ Microbiol*. 70(10): 715-5731.
- Meyer LH. 1996. *Food Chemistry*. New York: Teinhold Publishing Co.
- Muchtadi TR, Haryadi P, dan Ahza AB. 1988. *Teknologi Pemasakan Ekstrusi*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Nguyen TTT, Loiseau G, Verniere CI, Rochette I, Treche S, Guyo JP. 2007. Effects of fermentation by amyolytic lactic acid bacteria, in process combinations, on characteristics of rice/soybean slurries: a new method for preparing high energy density complementary foods for young children. *Food Chemical*. 100:623-631.
- Nowroozi J, Mirazaii M, dan Norouzi M. 2004. Study of *Lactobacillus* as probiotic bacteria. *Iranian Journal pub Health* 33:1-7.
- Nurani D, Sukotjo S, dan Nurmalasari S. 2013. Optimasi proses produksi tepung talas (*Colocasia esculenta*, L. Schott) termodifikasi secara fermentasi. *J IPTEK*. 8 (1): 65 – 7.
- Nurhayani H, Muhiddin, Nuryati J, Aryantha INP. 2000. Peningkatan kandungan protein kulit umbi ubi kayu melalui proses fermentasi. *JMS*. 6(1):1-12.
- Onilude AA, Ayinla GS, dan Eluehike C. 2017. Properties of alpha-amylase of *Lactobacillus plantarum* isolated from cassava waste samples. *Biotechnol Journal Intern*. 19(1): 1-14.
- Pangastuti HA, Affandi DR, dan Ishartani D. 2013. Karakterisasi sifat fisik dan kimia tepung kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

- dengan beberapa perlakuan pendahuluan. *Jurnal Teknosains Pangan*.2 (1).
- Peterson ME, Daniel RM, Danson MJ, Eisenthal R. 2007. The dependence of enzyme activity on temperature: determination and validation of parameters. *Biochemical Journal*. 402:331-337.
- Phattra B dan Maweang M. 2015. Effect of natural fermentation on the rice slurry properties related to rice paper production. *Journal Food Science Agr Tech*. 1 (1): 22-25.
- Putri DWR, Haryadi DW, Marseno, Cahyanto MN. 2011. Effect of biodegradation by lactic acid bacteria on physical properties of cassava starch. *International Food Res Journal* 18 (3) : 1149-1154.
- Sanni AI, Morlon-Guyot J, dan Guyot JP. 2002 New efficient amylase-producing strain of *Lactobacillus plantarum* and *L. fermentum* isolated from different Nigerian traditional fermented foods. *International Journal Food Microbiol*. 72(1-2):53-62.
- Saribuga E, Nadaroglu H, Dikbas N, Merve Senol, Cetin B. 2014. Purification, characterization of phytase enzyme from *Lactobacillus plantarum* bacteria and determination of its kinetic properties. *African Journal Biotechnol*. 13(23) :2373-2378.
- Schubert. 1987. Food article technology. Part 1: Properties of particle and particulate food system. *Journal Food Engineering*. 6: 1-32.
- Setiarto RHB, Jenie BSL, Faridah DN, Saskiawan I, Sulistiani. 2015. Seleksi bakteri asam laktat penghasil amilase dan pululanase dan aplikasinya pada fermentasi talas. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 26(1): 80-89.
- Sirajuddin S dan Najamuddin U. 2010. *Penuntun Praktikum Biokimia*. Makassar : Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin.
- Silva Lopes MF, Cunha A, Clemente JJ, Carrondo MJT, Crespo MTB. 1999. Influence of environmental factors on lipase production by *Lactobacillus plantarum*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 51(2): 249-254.
- Subagiyo, Nuraeni RAT, Setyati WA, Santoso A. 2016. Optimasi suhu dan pH pertumbuhan *Lactococcus lactis* isolat ikan kerapu. *Jurnal Kelautan Tropis*. 19(2):166-170.
- Suhanda I. 2009. *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Kompas.
- Sumengen M, Dincer S, dan Kaya A. 2013. Production and characterization of phytase from *Lactobacillus plantarum*. *Food Biotech*. 27(2):105-118.
- Susi, Agustina L, dan Sari SG. 2017. Pengembangan *ready to eat breakfast cereal* berbasis bahan lokal tepung kacang nagara termodifikasi bakteri laktat untuk meningkatkan gizi anak. [Laporan Penelitian Hibah Pekerti]. Banjarmasin: Universitas Lambung Mangkurat.
- Susi, Agustina L, dan Wibowo C. 2015a. Potential applications modified nagara bean flour through Fermentation for innovation analog rice high protein. *Proceedings of 2015 3rd - International Conference on Adaptive and Intelligent Agroindustry (ICAIA)*. IPB Bogor, Indonesia. 3-4 August 2015.
- Susi, Agustina L, dan Wibowo C. 2015b. Modifikasi tepung kacang nagara melalui fermentasi bakteri asam laktat untuk produksi beras analog dalam rangka meningkatkan ketahanan pangan. [Laporan Penelitian Hibah Pekerti]. Banjarmasin: Universitas Lambung Mangkurat.
- Tandrianto J, Mintoko DK, dan Gunawan S. 2014. Pengaruh fermentasi pada pembuatan mocaf (modified cassava flour) dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* terhadap kandungan protein. *Jurnal Teknik POMITS*.3 (2): 143-145.
- Uppada SR, Akula M, Bhattacharya A, Dutta JR. 2017. Immobilized lipase from *Lactobacillus plantarum* in meat degradation and synthesis of flavor esters. *Journal Genet Engand Biotechnol*. 15: 331-334.
- Utami T, Nurhayati R, dan Rahayu ES. 2015. The effect of addition of *Lactobacillus plantarum* S4512 on the microbiological and chemical characteristics during sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) fermentation. *AGRITECH* 35(4):449-455
- Vishnu C, Naveena BJ, Altaf M, Venkateshwar M, Reddy G. 2006. Amylopullulanase-A novel enzyme of *L. amylophilus* GV6 in direct fermentation of starch to L (+) lactic acid. *Enzyme Microb Technol*. 38 (3-4):545-550,doi 10.1016
- Winarno FG. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.