

KINERJA FERMENTASI SAGU ASAM MENGGUNAKAN STARTER CAIR DAN PADAT DARI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT *INDIGENOUS*

PERFORMANCE OF SOUR SAGO STARCH FERMENTATION USING LIQUID AND SOLID STARTERS FROM *INDIGENOUS ISOLATE OF LACTIC ACID BACTERIA*

Dedy Suseno¹⁾, Anja Meryandini^{2,3)}, dan Titi Candra Sunarti^{4)*}

¹⁾Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pascasarjana IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

²⁾Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

³⁾Departemen Biologi, FMIPA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

⁴⁾Departemen Teknologi Industri Pertanian, FATETA-IPB, Darmaga 16680, Bogor, Indonesia

Email : titi-cs@ipb.ac.id

Makalah: Diterima 29 September 2014; Diperbaiki 27 April 2015; Disetujui 14 Mei 2015

ABSTRACT

In eastern part of Indonesia, sago starch is usually used as staple food. Most of sago starch produced from traditional processing unit which not used clean potable water for its starch extraction, and the starch was kept and stored as wet starch. This causes the spontaneous fermentation of starch to become sour sago starch and contaminated by pathogenic microorganisms; which made the starch not suitable for human consumption and has short product self-life. Fruit water from settling process of starch slurry was used as microbe isolates source. Compared to solid starter, liquid starter showed high adaptation and ability to grow during fermentation, and it caused high acid accumulation in fermentation broth and dried sago starch. Fermentation process could improve the quality of sago starch, but its viscoamylography characteristic tended to reduce on peak viscosity and end viscosity lower. Sour sago had good quality since it could minimize the microbial contamination, especially pathogenic microorganisms.

Keywords: lactic acid bacteria, fermentation, nanoporous sago, sour sago starch, solid starter

ABSTRAK

Sagu merupakan makanan pokok bagi masyarakat di wilayah Indonesia Timur. Proses pembuatan pati sagu di sebagian besar wilayah Indonesia masih dilakukan secara tradisional dan menggunakan air dengan mutu yang buruk untuk proses ekstraksi; dan pati sagu disimpan dalam bentuk pati basah. Hal ini mengakibatkan sagu terfermentasi secara spontan sehingga terbentuk sagu asam dan tepung terkontaminasi oleh mikroba patogen. Hal ini mengakibatkan tepung tidak layak dikonsumsi oleh manusia dan menyebabkan umur simpan produk menjadi pendek. Dibandingkan dengan starter padat, perlakuan dengan starter cair memperlihatkan adaptasi yang tinggi dan kemampuannya tumbuh selama fermentasi serta mampu mengakumulasi asam yang tinggi pada cairan fermentasi dan pati kering. Proses fermentasi mampu meningkatkan mutu tepung sagu tetapi sifat viskoamilografi pati cenderung menurun khususnya pada parameter viskositas maksimum dan viskositas akhir. Sagu asam memiliki mutu yang baik karena dapat meminimalkan kontaminasi mikroba khususnya mikroba patogen.

Kata kunci: bakteri asam laktat, fermentasi, nanoporous sagu, sagu asam, starter padat

PENDAHULUAN

Tanaman sagu merupakan penghasil karbohidrat (energi) yang potensial di Indonesia terutama di Kawasan Timur Indonesia, namun belum dimanfaatkan secara optimal (Bamualim, 2002). Sejauh ini proses pembuatan tepung sagu masih dilakukan secara tradisional sehingga kurang memperhatikan kebersihan dan sanitasi produknya. Greenhill *et al.* (2009) menyebutkan bahwa banyak masyarakat di Papua New Guinea mengalami diare setelah mengonsumsi sagu. Sagu tersebut diolah secara tradisional menggunakan air yang tak bersih yang berasal dari air sisa buangan rumah tangga sehingga jumlah bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* pada sagu hasil fermentasi

selama 21 hari masih cukup banyak. Masyarakat di Papua New Guinea juga terbiasa menyimpan sagu basah yang dihasilkan dalam wadah (tumang) dan dibiarkan dalam waktu yang lama. Hal ini juga yang membuat pati sagu yang dihasilkan masih banyak mengandung bakteri patogen karena pati sagu memiliki kadar air yang tinggi dan sumber air yang digunakan tidak bersih. Penggunaan air bersih dalam proses fermentasi sagu diharapkan mampu menekan pertumbuhan mikroba khususnya bakteri patogen. Hal ini dikarenakan air bersih yang jika digunakan tidak mengandung bakteri patogen maka diharapkan produk sagu yang dihasilkan lebih aman untuk dikonsumsi.

Salah satu bakteri yang berperan dalam fermentasi adalah bakteri asam laktat. Bakteri asam

laktat bermanfaat untuk meningkatkan kualitas dan keamanan bahan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap mikroba yang bersifat patogen. Bakteri asam laktat menghasilkan beberapa komponen antimikroba yaitu asam organik, karbondioksida, hidrogen peroksida, diasetil, reuterin, dan bakteriosin (Rachmawati, 2005). Proses fermentasi bahan pangan dengan menambahkan starter berupa BAL bertujuan untuk mengurangi jumlah bakteri patogen, mengawetkan bahan pangan serta meningkatkan kualitas tepung yang dihasilkan (Helmi, 2011). Adanya asam pada bahan pangan yang terbentuk selama proses fermentasi dapat menjadikan bahan pangan tersebut tidak mudah terkontaminasi mikroba khususnya bakteri patogen.

Pemanfaatan BAL *indigenous* sebagai starter selama proses fermentasi pati sagu dimaksudkan agar BAL tersebut mampu tumbuh optimum selama proses fermentasi sagu. Hal ini dikarenakan BAL tersebut tidak memerlukan adaptasi selama proses fermentasi karena BAL tersebut sudah terbiasa dengan lingkungan asli hidupnya seperti kondisi lingkungan yang asam dan sumber karbon yang berasal dari pati sagu. Starter BAL yang digunakan dapat berupa starter cair maupun starter padat. Salah satu kelebihan menggunakan starter padat yaitu dapat mempertahankan viabilitas sel lebih lama jika dibandingkan dengan menggunakan starter cair.

Enkapsulasi adalah suatu proses pembungkusan (*coating*) suatu bahan inti dengan menggunakan bahan enkapsulasi tertentu. Teknik ini dilakukan dengan menambahkan bahan pembungkus (contohnya maltodekstrin, gum, protein dan sebagainya) untuk membungkus BAL. Wu *et al.* (2000) menyatakan bahwa proses enkapsulasi bermanfaat untuk mempertahankan viabilitas dan melindungi BAL dari kerusakan akibat kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Penggunaan nanoporous sagu yang digunakan sebagai pelindung diharapkan mampu mempertahankan viabilitas sel selama proses penyimpanan pada suhu ruang. Ukuran partikel nanoporous sagu yang kecil (nm) menjadikannya memiliki luas permukaan yang besar sehingga diharapkan nanoporous sagu mampu membungkus BAL dengan baik. Penelitian ini bertujuan mengamati kinerja fermentasi sagu menggunakan starter cair dan padat BAL *indigenous* terhadap karakteristik mutu sagu asam yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan yaitu isolat BAL *indigenous* yang diisolasi dari air rendaman ekstraksi pati sagu, pati sagu yang berasal dari pabrik sagu di Cimahpar Bogor, air minum dalam kemasan (AMDK) sebagai standar air bersih, nanoporous sagu, akuades steril, bufer fosfat pH 4

dan 7, media PDA, media SSA, media EMB, media PCA, media MRS, agar-agar, larutan NaCl fisiologis, larutan stok gula, indikator fenoltalein, NaOH 0,1 N, fenol 5%, H₂SO₄ pekat, media GYP, CaCO₃, etanol 95%, etanol 70%, dan HCl 2,2 N.

Metode

Penyiapan Starter Cair BAL

Isolat unggul BAL yang digunakan memiliki kemampuan menghasilkan total asam tertinggi setelah diukur menggunakan metode modifikasi Moore *et al.* (2011). Pembuatan starter cair BAL diawali dengan menentukan waktu pertumbuhan optimum. Waktu optimum menggambarkan fase logaritmik dimana bakteri secara cepat melakukan pembelahan sel. Pembuatan kurva tumbuh diawali dengan mengambil sebanyak 1 ose koloni BAL berusia 24 jam. Koloni tersebut dimasukkan ke dalam 10 mL media MRS *broth* selama 48 jam hingga OD-nya mencapai 0,8 – 1. Sebanyak 1 mL kultur BAL dipipet lalu dimasukkan ke dalam 9 mL media MRS *broth* kemudian diukur OD-nya selama 48 jam dengan selang waktu 3 jam pada suhu ruang, untuk menentukan waktu optimum pertumbuhan.

Starter cair BAL dibuat dengan mengambil sebanyak 1 ose koloni BAL berumur 24 jam lalu dimasukkan ke dalam 10 mL MRS *broth* pada tabung ulir. Tabung ulir ini lalu disimpan pada anaerobik jar selama 48 jam pada suhu ruang. Setelah 48 jam, kultur cair ini dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam 9 mL media MRS *broth* dan diinkubasi selama waktu optimumnya pada suhu ruang.

Penyiapan Starter Padat BAL

Starter padat BAL dibuat dengan menggabungkan BAL dengan bahan pelindung berupa nanoporous sagu. Nanoporous sagu dibuat dengan 2 tahap yaitu *lintnerisasi* pati (metode Faridah *et al.* (2010) serta Jayakodi dan Hoover (2002) dan presipitasi dengan etanol (metode Winarti *et al.*, 2014). Nanoporous sagu yang dihasilkan lalu ditambahkan 10 mL (v/v) kultur cair BAL berumur 48 jam dan aquades steril dengan perbandingan tepung : aquades yaitu 1 : 10 (b/v : v/v). Suspensi ini lalu dikeringkan dengan metode *freeze drying*. Uji viabilitas BAL dilakukan setelah penyimpanan pada hari ke-0, 7, 14, 21, 28 dan 35 menggunakan media MRS agar.

Fermentasi Pati Sagu

Proses fermentasi sagu dilakukan dengan menambahkan sebanyak 300 g pati sagu dengan 100 mL air bersih (AMDK). Penelitian dilakukan dengan tiga perlakuan yaitu fermentasi dengan starter cair, fermentasi dengan starter padat serta fermentasi spontan/tanpa penambahan starter dengan tiga kali ulangan. Perlakuan menggunakan starter padat dilakukan dengan menambahkan 1 g starter padat yang setara dengan $2,0 \times 10^4$ CFU/g ke dalam

sampel. Perlakuan menggunakan starter cair dilakukan dengan menambahkan 1 mL starter cair yang setara dengan $2,0 \times 10^7$ CFU/mL ke dalam sampel. Hasil fermentasi diamati pada pengamatan hari ke- 0, 7, 14, 21, 28 dan 35 hari.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan percobaan acak lengkap dengan 2 faktor yaitu pengaruh penambahan starter cair, starter padat dan tanpa starter (faktor A) dan lama fermentasi (faktor B). Model linier rancangan percobaannya yaitu :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan:

- Y_{ijk} = Nilai pengamatan pada faktor A taraf ke- i faktor B taraf ke- j dan ulangan ke- k
 α_i = Pengaruh utama faktor A
 β_j = Pengaruh utama faktor B
 $(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi dari faktor A dengan faktor B
 ε_{ijk} = Pengaruh acak yang menyebar normal

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis ragam (SAS). Jika pengujian ragam menghasilkan penolakan terhadap H_0 maka dilakukan uji lanjut. Uji lanjut yang digunakan adalah *Least Squares Means* pada taraf 5%.

Karakterisasi Cairan Fermentasi dan Pati Sagu Terfermentasi

Karakterisasi cairan fermentasi yang dilakukan meliputi uji total asam (modifikasi metode Moore *et al.* (2011)), uji TSC (*total soluble carbohydrate*) (metode Dubois *et al.* (1956)), uji pH (AOAC, 1994) dan perhitungan jumlah mikroorganisme yang meliputi total mikroorganisme menggunakan media PCA, total BAL menggunakan media MRS, total kapang dan khamir menggunakan media PDA, total bakteri coliform menggunakan media EMB, serta total bakteri *Salmonella sp* dan *Shigella sp* menggunakan media SSA.

Pati sagu hasil fermentasi dijemur 7 sampai 8 jam dibawah sinar matahari. Setelah itu, pati sagu dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 48 jam lalu diuji kadar air (SNI 3729:2008), uji total asam (modifikasi metode Moore *et al.*, 2011), uji pH (AOAC, 1994), uji sifat amilografi menggunakan *Rapid Visco Analyzer* dan perhitungan jumlah mikroorganisme yang meliputi total mikroorganisme menggunakan media PCA, total BAL menggunakan media MRS, total kapang dan khamir menggunakan media PDA, total bakteri *coliform* menggunakan media EMB, serta total bakteri *Salmonella sp* dan *Shigella sp* menggunakan media SSA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat *Indigenus*

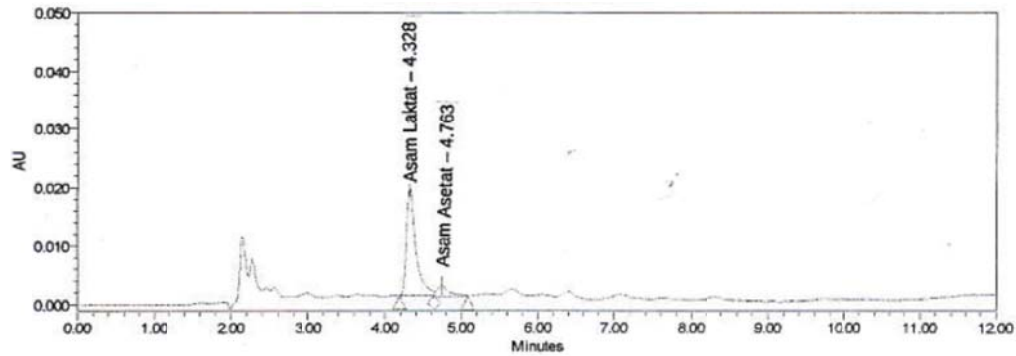
Isolat 5.2 adalah isolat *indigenus* yang diisolasi dari air rendaman ekstraksi pati sagu dan

memiliki kemampuan fermentasi yang besar dalam hal menghasilkan asam organik. Isolat ini mampu menghasilkan konsentrasi total asam tertitrasi sebesar 6,12 mg/mL. Isolat 5.2 termasuk jenis BAL karena memiliki ciri-ciri menghasilkan asam pada media GYP yang telah ditambahkan CaCO_3 , Gram positif, karakteristik morfologi sel batang, dan katalase negatif. Hal yang sama telah dinyatakan oleh Suardana *et al.* (2007) bahwa isolat BAL itu memiliki ciri-ciri Gram positif, morfologi sel berbentuk bulat atau batang, katalase negatif serta mampu menghasilkan asam pada media MRS. Isolat BAL dengan ciri-ciri Gram positif, uji katalase negatif, heterofermentatif (menghasilkan asam laktat, asam asetat serta CO_2), dan bentuk morfologi sel batang termasuk ke dalam genus *Lactobacillus* (Suryani, 2010; Wikandari, 2012). Hal ini mengindikasikan bahwa isolat 5.2 yang diisolasi dari air rendaman pati sagu adalah jenis *Lactobacillus sp.* Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* merupakan bakteri endogen padaproses fermentasi bahan pangan berupa tepung jagung, singkong dan beras (Putri, 2008).

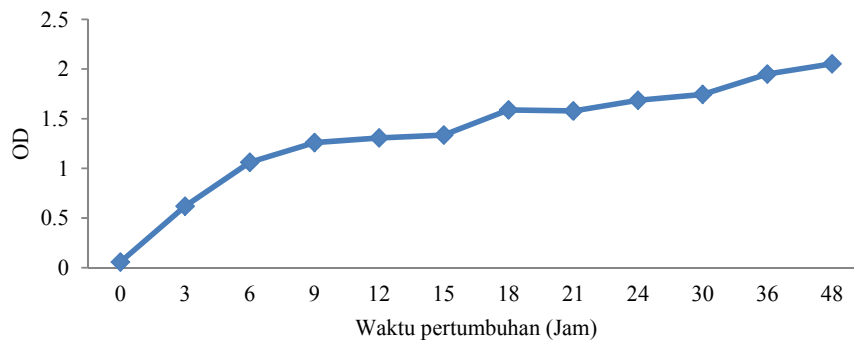
Isolat 5.2 termasuk jenis BAL heterofermentatif karena menghasilkan asam organik selain asam laktat pada proses metabolismenya setelah dianalisis menggunakan HPLC (Gambar 1). Selain itu isolat 5.2 memiliki waktu optimum pertumbuhannya pada jam ke-3 (Gambar 2) dengan laju pertumbuhan spesifik (μ) sebesar 0,187/jam. Yuliana (2008) telah mengisolasi BAL dari tempoyak dan mendapatkan waktu pertumbuhan optimum pada jam yang sama dengan laju pertumbuhan spesifik (μ) yang lebih kecil sebesar 0,0598/jam. Perbedaan laju pertumbuhan dengan isolat 5.2 mungkin dapat disebabkan karena isolat yang digunakan berbeda spesies dan sumber isolatnya.

Viabilitas Starter Setelah Penyimpanan

Bahan matriks enkapsulasi bisa berasal dari berbagai jenis polimer contohnya pati. Pati mempunyai beberapa kelebihan diantaranya murah, ketersediaan melimpah, sangat mudah terdegradasi dan mudah dimodifikasi. Penggunaan nanoporous sagu sebagai bahan pelindung dilakukan karena selain mampu melindungi BAL, bahan dasar pembuatannya juga melimpah dan murah harganya. Selain itu pati sagu merupakan salah satu sumber karbon bagi BAL *indigenus* tersebut sehingga BAL tidak perlu beradaptasi terhadap sumber karbon yang tersedia selama proses *freeze drying* dan fermentasi sagu. Zuidam (2010) menyatakan bahwa bahan pelindung yang digunakan harus mampu melindungi senyawa aktif dan aman dikonsumsi jika produk enkapsulasi tersebut digunakan dalam bahan pangan. Nanoporous sagu yang digunakan berbahan dasar pati sagu sehingga produk yang dihasilkan nantinya akan aman dikonsumsi.



Gambar 1. Kromatogram produksi asam-asam organik isolat 5.2 pada media MRS broth pada suhu ruang

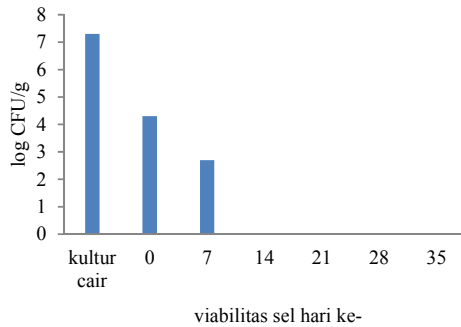


Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat 5.2 pada media MRS broth

Penyiapan starter padat diawali dengan menyiapkan matriks pelindung berupa nanoporous sagu. Nanoporous sagu yang dihasilkan akan ditambahkan kultur cair BAL kemudian di-*freeze drying* sehingga didapatkan starter padat BAL. Hasil TPC (*total plate count*) starter padat yang disimpan pada suhu ruang menunjukkan penurunan sebesar 41,10% setelah *freeze drying* (hari ke-0) dan 63,01% pada hari ke-7, sedangkan pada hari ke-14 sampai hari ke-35 tidak menunjukkan adanya bakteri yang hidup pada media MRS (Gambar 3). Penurunan ketahanan sel selama *freeze drying* kemungkinan disebabkan oleh proses pembekuan dan pengeringan. Proses pembekuan menyebabkan sel kehilangan kestabilannya sehingga menjadi mudah rusak selama pengeringan. Faktor utama penyebab kerusakan akibat pengeringan sel bakteri karena *shock* osmotik dengan kerusakan membran dan perpindahan ikatan hidrogen yang berpengaruh terhadap sifat-sifat makromolekul hidrofilik dalam sel (Puspawati, 2010).

Faktor lain yang dapat menyebabkan menurunnya jumlah viabilitas sel karena bahan pelindung yang digunakan. Penggunaan bahan pelindung yang tepat dapat mempertahankan viabilitas sel selama proses *freeze drying* maupun setelah penyimpanan pada suhu ruang. Puspawati (2010) menyatakan bahwa penggunaan pelindung berupa susu skim mampu menjaga menurunnya

viabilitas sel BAL setelah proses *freeze drying* bila dibandingkan dengan sukrosa, laktosa, dan maltodekstrin. Sri *et al.* (2012) menyatakan bahwa pengelompokan mikroenkapsulasi berdasarkan ukurannya yaitu mikrokapsul berukuran 10^{-6} m (μm) sedangkan nanokapsul berukuran 10^{-9} m (nm). Mikrokapsul secara garis besar ada 3 tipe yaitu berinti tunggal, berinti banyak dan tipe matriks (Winarti, 2013). Nanoporous yang digunakan memiliki ukuran partikel 10^{-9} m (nm) sedangkan BAL yang akan dienkapsulasi memiliki ukuran sel yang lebih besar dari nanoporous berkisar 10^{-6} m (μm). Berdasarkan perbedaan ukuran partikelnya, diduga tipe mikrokapsul yang dihasilkan berinti satu dimana satu sel BAL terbungkus oleh banyak partikel nanoporous sagu. Proses enkapsulasi akan berjalan baik jika bahan pelindung yang digunakan mampu melindungi seluruh permukaan BAL sehingga selama proses *freeze drying*, BAL mampu bertahan dari kondisi lingkungan yang ekstrim. Penurunan viabilitas sel yang besar setelah proses *freeze drying* dapat dikatakan bahwa BAL tidak terlindungi dengan baik oleh nanoporous sagu ataupun proses enkapsulasi tidak berjalan baik sehingga tidak semua BAL terbungkus oleh nanoporous sagu. Hal ini mengakibatkan BAL yang tidak terbungkus bahan pelindung akan mati selama proses *freeze drying*.



Gambar 3. Penurunan viabilitas starter padat BAL yang disimpan pada suhu ruang

Berkurangnya viabilitas sel selama proses penyimpanan juga dapat disebabkan karena tidak adanya sumber nutrisi pada bahan pelindung yang digunakan sehingga lambat laun akan menyebabkan kematian pada bakteri itu sendiri. Shima (2012) menyatakan bahwa penambahan bahan pelindung berupa nanoporous matriks (12% b/v) mampu mempertahankan viabilitas BAL yang lebih baik bila dibandingkan dengan penambahan inulin pada fermentasi yogurt selama 24 jam setelah disimpan pada suhu ruang. Sumber karbon pada *sago starch oligosaccharides* dinilai lebih efektif dimanfaatkan BAL dibandingkan dengan inulin karena BAL lebih mudah memetabolisme *Sago starch oligosaccharides*. Hal ini menggambarkan bahwa pemilihan bahan pelindung harus memiliki kualitas yang baik dalam hal melindungi sel dari kerusakan selama proses *freeze drying* maupun mencukupi sel sebagai nutrisi selama proses penyimpanan pada suhu ruang. Hasil penelitian menggambarkan bahwa nanoporous sago yang digunakan ternyata tidak mampu melindungi viabilitas sel BAL dengan maksimal baik selama proses *freeze drying* maupun setelah penyimpanan pada suhu ruang.

Karakteristik Cairan Fermentasi

Nilai pH.

Nilai pH pada cairan fermentasi baik yang menggunakan starter padat, cair dan tanpa starter rata-rata mengalami penurunan setiap minggu. Adanya penurunan pH dapat disebabkan karena

bakteri dalam starter padat ataupun cair dan bakteri asam laktat dalam tepung sago itu sendiri menghasilkan asam-asam organik berupa asam laktat, asam asetat maupun alkohol (Tabel 1). Semakin lama proses fermentasi, maka nilai pH pada bahan yang difermentasi akan semakin menurun. Hal ini disebabkan karena pada proses fermentasi terjadi aktivitas mikroba yang menghasilkan asam-asam organik terutama asam laktat (Sari, 2012; Anggraeni, 2014).

Penelitian Pratama (2013) menyatakan juga bahwa terjadi penurunan pH pada cairan fermentasi singkong menggunakan ragi tempe, ragi roti dan *Lactobacillus plantarum* dari pH 7 menjadi pH 3. Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan pH pada cairan fermentasi dari pH 4,097 sampai pH 2,98. Hasil statistik menunjukkan bahwa interaksi antara perlakuan dengan waktu fermentasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap perubahan pH cairan fermentasi ($0,0998 > 0,05$). Hal ini dikarenakan penurunan nilai pH tidak besar selama proses fermentasi selama 35 hari pada ketiga perlakuan.

Total Asam

Nisa (2008) menyatakan bahwa yang terukur dalam total asam tertitrasi adalah total asam yang terdisosiasi maupun yang tidak terdisosiasi sehingga dapat diketahui secara total semua asam yang dapat terikat oleh NaOH. Berdasarkan data yang diperoleh, terjadi peningkatan konsentrasi total asam dari hari ke-0 sampai hari ke-35 pada semua perlakuan (Tabel 2). Hal ini sebanding dengan penurunan nilai pH akibat adanya asam-asam organik hasil metabolisme bakteri selama proses fermentasi. Pada hari ke-0 terjadi perbedaan total asam pada ke-3 perlakuan walaupun proses pengambilan sampel pada tempat dan waktu yang sama. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan jumlah mikroba pada pati sago. Pada Tabel 3 menunjukkan data bahwa jumlah total mikroba pada perlakuan menggunakan starter padat jumlahnya lebih sedikit dibandingkan perlakuan lainnya sehingga konsentrasi total asam pada hari ke-0 jumlahnya lebih sedikit.

Tabel 1. Perubahan pH cairan pati sago terfermentasi

Perlakuan	nilai pH cairan hari ke-					
	0	7	14	21	28	35
Starter cair	3,61 ^a	3,27 ^a	3,17 ^a	3,20 ^a	3,12 ^a	3,08 ^a
Starter padat	4,10 ^a	3,29 ^a	3,23 ^a	3,16 ^a	3,26 ^a	3,14 ^a
Tanpa starter	3,61 ^a	3,51 ^a	3,11 ^a	3,13 ^a	3,04 ^a	2,98 ^a

Angka yang memiliki huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%

Tabel 2. Konsentrasi total asam pada cairan sagu terfermentasi

Perlakuan	Konsentrasi total asam(mg/mL) hari ke-					
	0	7	14	21	28	35
Starter cair	9,45 ^{bcd}	6,00 ^{ef}	6,00 ^{ef}	9,30 ^{bcd}	11,40 ^{ab}	13,80 ^a
Starter padat	0,20 ^h	3,10 ^g	5,03 ^f	7,90 ^{de}	8,67 ^{cde}	11,47 ^{ab}
Tanpa starter	7,20 ^{def}	6,00 ^{ef}	6,00 ^{ef}	9,60 ^{bcd}	10,50 ^{bc}	11,10 ^{bc}

Angka yang memiliki huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%

Tabel 3. Populasi mikroorganisme pada cairan fermentasi

Mikroba	Perlakuan	Jumlah mikroba hari ke- (log CFU/mL)					
		0	7	14	21	28	35
Bakteri Asam Laktat	Starter cair	6,0 ^c	8,3 ^a	8,3 ^{ab}	7,5 ^c	7,0 ^c	6,9 ^c
	Starter padat	6,0 ^c	8,4 ^a	7,5 ^c	6,6 ^c	7,1 ^c	6,4 ^c
	Tanpa starter	5,9 ^c	8,0 ^{bc}	7,9 ^c	6,1 ^c	6,0 ^c	5,8 ^c
<i>Escherichia coli</i>	Starter cair	7,2 ^b	7,4 ^b	7,0 ^b	6,9 ^b	6,2 ^b	5,1 ^b
	Starter padat	5,8 ^b	8,3 ^a	7,5 ^b	6,7 ^b	6,8 ^b	6,4 ^b
	Tanpa starter	6,8 ^b	7,1 ^b	7,4 ^b	6,4 ^b	7,2 ^b	5,8 ^b
Kapang dan khamir	Starter cair	5,6 ^a	8,5 ^a	8,3 ^a	7,2 ^a	6,7 ^a	6,2 ^a
	Starter padat	5,8 ^a	8,4 ^a	8,2 ^a	7,2 ^a	7,4 ^a	7,4 ^a
	Tanpa starter	6,4 ^a	8,2 ^a	8,2 ^a	6,9 ^a	7,9 ^a	7,9 ^a
<i>Salmonella sp</i> dan <i>Shigella sp</i>	Starter cair	tt	tt	tt	tt	tt	tt
	Starter padat	tt	tt	tt	tt	tt	tt
	Tanpa starter	tt	tt	tt	tt	tt	tt
Total Mikrob	Starter cair	6,5 ^{de}	8,2 ^{bc}	8,2 ^b	7,0 ^{de}	6,8 ^{de}	7,4 ^{cde}
	Starter padat	5,7 ^e	8,5 ^a	7,7 ^{bcd}	6,9 ^{de}	7,0 ^{cde}	6,6 ^{de}
	Tanpa starter	6,3 ^{de}	8,3 ^b	7,7 ^{bcd}	6,0 ^{de}	8,0 ^{bcd}	7,6 ^c

Angka yang memiliki huruf yang sama pada masing-masing uji mikroorganisme dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%

* tt : tidak terdeteksi pertumbuhan

Konsentrasi total asam tertinggi pada perlakuan menggunakan starter cair, starter padat dan tanpa starter berturut-turut yaitu 13,80 mg/mL, 11,47 mg/mL dan 11,10 mg/mL. Bakteri asam laktat (BAL) adalah mikroba yang mendominasi selama proses fermentasi. Bakteri ini akan menggunakan gula-gula sederhana pada cairan fermentasi yang akan digunakan sebagai bahan baku untuk menghasilkan asam-asam organik, terutama asam laktat (Anggraeni, 2014).

Proses fermentasi dengan menambahkan starter cair dan padat menghasilkan konsentrasi total asam yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan tanpa starter pada hari ke-35. Hal ini menggambarkan bahwa bakteri asam laktat yang ditambahkan mempengaruhi konsentrasi total asam pada cairan fermentasi. Uji statistik menunjukkan bahwa interaksi pengaruh waktu dengan perlakuan berpengaruh nyata terhadap konsentrasi total asam (nilai uji 0,0304 < 0,05).

Total Soluble Carbohydrate (TSC)

Gula adalah nutrisi yang dimanfaatkan oleh BAL untuk menghasilkan asam laktat. Pada

fermentasi susu kedelai menggunakan bakteri asam laktat penurunan kadar gula diduga akibat pemanfaatan gula sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel serta pembentukan metabolit oleh bakteri selama proses fermentasi (Nisa, 2008). Hasil penelitian memperlihatkan penurunan konsentrasi TSC dalam cairan fermentasi dari hari ke-0 sampai hari ke-21, namun saat hari ke-28 sampai ke-35 terjadi peningkatan konsentrasi TSC baik pada perlakuan tanpa starter, penggunaan starter padat dan starter cair (Tabel 4). Konsentrasi TSC pada hari ke-21 pada penggunaan starter cair, starter padat dan tanpa starter berturut-turut yaitu 50,88 mg/mL, 30,63 mg/mL, dan 3,39 mg/mL. Hal ini menandakan sampai hari ke-21 terjadi penggunaan TSC oleh mikroba sampai pada batas konsentrasi minimum. Semakin berkurangnya konsentrasi TSC pada cairan menyebabkan mikroba mulai menghidrolisis pati sehingga menyebabkan konsentrasi TSC dari hari ke-21 sampai hari ke-35.

Tabel 4. Konsentrasi TSC pada cairan sagu terfermentasi

Perlakuan	Total Soluble Carbohydrate (TSC) (mg/mL) hari ke-					
	0	7	14	21	28	35
Starter cair	131,20 ^a	123,00 ^a	67,00 ^d	50,87 ^{de}	63,70 ^d	108,80 ^a
Starter padat	64,10 ^d	53,33 ^{de}	32,60 ^e	30,63 ^e	49,47 ^{de}	88,20 ^{abcd}
Tanpa starter	121,60 ^{ab}	124,93 ^a	80,77 ^c	53,40 ^{de}	91,13 ^{abc}	105,57 ^{abc}

Angka yang memiliki huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%

Meningkatnya konsentrasi TSC berbanding lurus dengan peningkatan total mikroorganisme dan konsentrasi total asam pada hari ke-21 sampai hari ke-35 pada semua perlakuan. Hal ini terjadi karena peningkatan pertumbuhan mikroorganisme diimbangi dengan meningkatnya hasil metabolisme berupa asam-asam organik. Konsentrasi TSC tertinggi terjadi pada hari ke-35 baik pada penggunaan starter cair (108,78 mg/mL), starter padat (88,22 mg/mL) dan tanpa starter (105,55 mg/mL). Uji statistik menunjukkan bahwa pengaruh interaksi waktu dan perlakuan berpengaruh nyata terhadap konsentrasi TSC (nilai uji $0,0232 < 0,05$).

Populasi Mikroorganisme

Semakin menurunnya nilai pH (Tabel 1) pada cairan fermentasi mengindikasikan bahwa semakin banyak konsentrasi asam-asam organik pada cairan tersebut. Hasil penelitian (Tabel 3) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah BAL sampai hari ke-7 baik pada perlakuan menggunakan starter cair, padat atau tanpa starter. Setelah hari ke-7 sampai hari ke-35 terjadi penurunan jumlah BAL, hal ini dapat disebabkan karena semakin sedikitnya konsentrasi gula-gula terlarut dalam cairan fermentasi dan kondisi pH yang semakin asam dari hari ke hari. Hasil statistik menunjukkan bahwa pengaruh waktu dan perlakuan berpengaruh nyata terhadap jumlah BAL (nilai uji $0,0282 < 0,05$).

Rahmawati (2005) menyatakan kultur bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan *E. colidan S. aureus*. Jumlah bakteri *E. coli* dari hari ke-7 sampai hari ke-35 pada penambahan starter cair terjadi penurunan. Hasil statistik menunjukkan bahwa pengaruh waktu dan perlakuan berpengaruh nyata terhadap jumlah *E. coli* (nilai uji $0,0015 < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat bakteri *Salmonella sp* dan *Shigella sp* pada fermentasi pati sagu dari hari ke-0 sampai hari ke-35.

Pada penggunaan starter padat dan cair, jumlah kapang dan khamir pada cairan fermentasi terjadi peningkatan sampai hari ke-7 namun terjadi penurunan lagi sampai hari ke-35. Berbeda dengan fermentasi sagu tanpa menggunakan starter, jumlah kapang dan jamur meningkat sampai hari ke-14 dan menurun lagi jumlahnya sampai hari ke-28. Adanya penurunan jumlah kapang dan khamir dapat disebabkan karena konsentrasi asam laktat semakin besar dari hari ke hari. Bakteri *Lactobacillus sp* telah

dilaporkan Illianingtyas (2006) mampu menghambat pertumbuhan kapang *Penicillium sp* dan *Aspergillus sp* yang terlihat dari adanya zona hambat pada media agar.

Jumlah TPC pada hari ke-7 dan 14 berbeda nyata dengan hari ke-0 pada perlakuan starter cair dan starter padat pada taraf nyata 5%. Pada perlakuan tanpa starter terjadi perbedaan yang nyata pada hari ke-7 dengan hari ke-0. Secara umum TPC tertinggi terjadi pada hari ke-7 yaitu 8,2 log CFU/mL, 8,5 log CFU/mL dan 8,3 log CFU/mL pada perlakuan starter cair, starter padat dan tanpa starter. Hal ini menggambarkan terjadi pertumbuhan mikroorganisme secara maksimum pada hari ke-7. Hasil statistik menunjukkan bahwa pengaruh waktu dan perlakuan berpengaruh nyata terhadap TPC (nilai uji $0,045 < 0,05$).

Karakteristik Mutu Sagu Asam

Kadar Air

Kadar air dalam tepung menggambarkan banyaknya air yang terperangkap dalam struktur berongga pati. Hal ini menyebabkan besar atau kecilnya kadar air yang terperangkap dalam tepung adalah adanya aktivitas mikroba saat proses pembuatan tepung sagu asam. Anggraeni (2014) menyatakan bahwa semakin lama fermentasi maka kadar air tepung ubi jalar semakin menurun, hal ini disebabkan karena pada saat fermentasi terjadi degradasi pati oleh mikroorganisme yang menyebabkan turunnya kemampuan bahan dalam mempertahankan air. Pada proses fermentasi, semakin lama waktu fermentasi maka aktivitas enzim dalam mendegradasi pati dalam bahan semakin meningkat. Hal ini menyebabkan semakin banyak jumlah air terikat yang terbebaskan, oleh sebab itu tekstur bahan menjadi lunak dan berpori. Keadaan ini dapat menyebabkan penguapan air selama proses pengeringan, dengan demikian kadar air akan semakin menurun dalam jangka pengeringan yang sama.

Analisis kadar air yang dihasilkan selama fermentasi memberikan hasil yang berbeda baik yang perlakuan tanpa starter, menggunakan starter cair maupun padat. Kadar air terendah pada perlakuan tanpa starter sebesar 5,20% pada hari ke-21. Perlakuan menggunakan starter padat menghasilkan kadar air terendah 3,23% pada hari ke-0 sedangkan pada perlakuan menggunakan starter cair menghasilkan kadar air terendah 6,03% pada hari ke-21 (Tabel 5). Tingginya atau rendahnya

kadar air pada tepung akan berpengaruh terhadap umur simpan tepung. Jika kadar air tepung tinggi dikhawatirkan akan mudah terkontaminasi mikroba khususnya jamur. Secara umum hasil uji statistik memberikan nilai 0,0003 dan lebih kecil dari nilai α 5% sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa pengaruh interaksi antara perlakuan dengan waktu fermentasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air tepung.

Nilai pH

Keasaman tepung yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi asam-asam organik selama proses fermentasi. Tepung sagu yang dihasilkan berbau dan memiliki pH asam karena asam-asam organik terikat dalam molekul pati. Greenhill *et al.* (2009) menyatakan bahwa terjadi peningkatan asam-asam organik selama fermentasi spontan tepung sagu selama 30 hari. Konsentrasi asam-asam organik yang tertinggi yaitu asam butirat diikuti asam asetat serta asam laktat. Semakin banyak konsentrasi asam-asam organik pada tepung maka akan menyebabkan penurunan nilai pH.

Nilai pH tepung yang dihasilkan berbeda dengan nilai pH pada cairan. Hal ini dapat dijelaskan karena pada cairan fermentasi terdapat banyak mikroba dan berbeda dengan tepung, sehingga banyaknya mikroba akan sangat mempengaruhi pH cairan fermentasi tersebut. Pratama (2013) menyatakan terjadi perbedaan nilai asam laktat pada cairan dengan tepung. Pada padatan nilai asam laktat lebih kecil daripada nilai asam laktat pada larutan, hal ini disebabkan karena adanya peristiwa difusi, dimana terjadi peristiwa berpindahannya suatu zat dalam pelarut dari bagian berkonsentrasi tinggi ke bagian yang berkonsentrasi rendah.

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang mendominasi sebanyak 77,5% selama fermentasi

tepung roti asam (Savic, 2007). Hal ini menggambarkan bahwa pH tepung hasil fermentasi akan bersifat lebih asam setelah difermentasi karena banyaknya bakteri asam laktat yang menghasilkan asam-asam organik. Hasil penelitian (Tabel 6) menunjukkan bahwa pH tepung sagu hasil fermentasi terjadi penurunan nilai pH dari 4,43 sampai 3,63 selama proses fermentasi dari hari ke-0 sampai hari ke-35. Hal yang sama dilaporkan oleh Wan *et al.* (2011) dimana terjadi penurunan pH tepung gandum dari 5,9 – 3,8 setelah difermentasi selama 20 jam menggunakan starter *Lactobacillus bulgarica*. Secara umum hasil uji statistik memberikan nilai 0,8364 dan lebih besar dari nilai α 5% sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa pengaruh perlakuan dan waktu fermentasi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH tepung.

Total Asam

Adanya asam yang tinggi dalam tepung akan menyebabkan kualitas tepung yang dihasilkan menurun. Selain mengubah rasa, bau asam yang dihasilkan pun tidak terasa enak bila dihirup. Gunaidi (2009) menyatakan bahwa isolat bakteri amilolitik dari tepung sagu asam menghasilkan asam-asam organik berupa asam laktat, asam propiobat, butirat dan asetat dengan konsentrasi tertinggi asam yang dihasilkan yaitu asam laktat. Kemasaman tepung sagu basah hasil penyediaan secara tradisional disebabkan oleh adanya kegiatan fermentasi yang dilakukan oleh bakteri amilolitik dengan produk dominan asam laktat, meskipun asam laktat yang terbentuk kadarnya tinggi tetapi bau asam yang menyengat pada tepung sagu dikarenakan oleh adanya asam butirat yang memang memiliki sifat bau asam yang menyengat dantahan lama meskipun dalam jumlah kecil.

Tabel 5. Hasil analisis kadar air

Perlakuan	Kadar air (%) pada hari ke-					
	0	7	14	21	28	35
Starter cair	6,40 ^{ab}	6,03 ^b	6,17 ^{abc}	6,03 ^b	6,07 ^b	6,33 ^{abc}
Starter padat	3,23 ^f	4,67 ^{de}	4,37 ^{ef}	6,37 ^{abc}	6,30 ^{abc}	4,13 ^{ef}
Tanpa starter	7,75 ^a	6,63 ^{ab}	7,27 ^a	5,20 ^{cde}	5,60 ^{bcd}	6,50 ^{ab}

Angka yang memiliki huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%

Tabel 6. Perubahan pH pada tepung sagu terfermentasi

Perlakuan	pH tepung hari ke-					
	0	7	14	21	28	35
Starter cair	3,70 ^a	3,67 ^a	3,63 ^a	3,60 ^a	3,70 ^a	3,63 ^a
Starter padat	4,43 ^a	4,40 ^a	4,03 ^a	3,77 ^a	3,97 ^a	4,07 ^a
Tanpa starter	3,95 ^a	3,77 ^a	3,60 ^a	3,67 ^a	3,70 ^a	3,70 ^a

Angka yang memiliki huruf yang sama pada masing-masing parameter uji dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%

Adanya asam pada pati sagu hasil fermentasi memberikan suatu keuntungan diantaranya menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Konsentrasi total asam pada perlakuan menggunakan starter padat jumlahnya lebih sedikit dibandingkan perlakuan yang lain pada hari ke-35 (Tabel 7). Hal ini berpengaruh terhadap total mikroba dimana perlakuan menggunakan starter padat jumlah total mikroba lebih banyak (Tabel 8).

Nilai pH akan berbanding lurus dengan konsentrasi total asam. Semakin rendah pH tepung maka konsentrasi total asam akan semakin besar. Hasil penelitian menunjukkan pH tepung sagu asam semakin menurun pada hari ke-35 bila dibandingkan sagu asam pada hari ke-0 pada ke-3 perlakuan (Tabel 6). Hal ini sebanding dengan nilai konsentrasi total asam yang meningkat selama proses fermentasi bila dibandingkan dengan total asam pada hari ke-0 baik pada perlakuan starter cair, padat maupun tanpa starter. Hal yang sama dilaporkan oleh Adegunwa (2011) bahwa terjadi peningkatan konsentrasi total asam dengan semakin menurunnya pH tepung singkong asam yang difermentasi selama 25 hari. Uji statistik menunjukkan bahwa pengaruh interaksi

waktu dan perlakuan berpengaruh nyata terhadap total asam (nilai uji $0,0028 < 0,05$).

Populasi Mikroorganisme

Adanya mikroba yang berlebih khususnya bakteri patogen pada bahan pangan dikhawatirkan akan menyebabkan penyakit pada yang mengonsumsinya. Salah satu tujuan fermentasi ini yaitu mengurangi dan menekan jumlah bakteri patogen sehingga tepung aman dikonsumsi. Terdapatnya BAL pada tepung pada perlakuan menggunakan starter cair pada hari ke-7 dan tanpa starter pada hari ke-21 dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut terperangkap pada pati. Selain itu pada fermentasi hari ke-7 rata-rata pertumbuhan bakteri mencapai puncaknya tak terkecuali pada BAL sehingga dapat dimungkinkan banyak BAL yang masuk ke dalam rongga-rongga struktur pati. Selain BAL, adanya *E. coli* dapat dikatakan pati tersebut masih mengandung bakteri patogen. Jumlah *E. coli* tertinggi terjadi pada fermentasi hari ke-35 (67 CFU/g) pada starter cair, fermentasi hari ke-21 (83 CFU/g) pada starter padat dan fermentasi hari ke-0 (35 CFU/g) pada perlakuan tanpa starter.

Tabel 7. Konsentrasi total asam pada tepung sagu terfermentasi

Perlakuan	Konsentrasi total asam (mL NaOH 1 N/100 g bahan) hari ke-					
	0	7	14	21	28	35
Starter cair	2,80 ^d	5,27 ^a	4,60 ^{bc}	4,07 ^c	4,47 ^{bc}	4,20 ^{bc}
Starter padat	1,67 ^{ef}	1,13 ^f	1,80 ^{ef}	1,73 ^{ef}	2,07 ^{de}	2,27 ^{de}
Tanpa starter	2,50 ^{de}	4,47 ^{bc}	4,87 ^{ab}	4,27 ^{bc}	4,20 ^{bc}	4,07 ^c

Angka yang memiliki huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%

Tabel 8. Populasi mikroba pada tepung sagu terfermentasi

Mikroba	Perlakuan	Jumlah mikroba hari ke- (CFU/g)					
		0	7	14	21	28	35
Bakteri Asam Laktat	Starter cair	0 ^a	53 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	33 ^a
	Starter padat	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	Tanpa starter	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
<i>Escherichia coli</i>	Starter cair	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	33 ^a	67 ^a
	Starter padat	0 ^a	0 ^a	0 ^a	83 ^a	0 ^a	0 ^a
	Tanpa starter	35 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Kapang dan khamir	Starter cair	>300 ^a	67 ^a	>300 ^a	50 ^a	33 ^a	0 ^a
	Starter padat	0 ^a	33 ^a	220 ^a	120 ^a	130 ^a	120 ^a
	Tanpa starter	160 ^a	50 ^a	0 ^a	50 ^a	30 ^a	33 ^a
<i>Salmonella sp</i> dan <i>Shigella sp</i>	Starter cair	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	Starter padat	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	Tanpa starter	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Total Mikrob	Starter cair	0 ^a	0 ^a	50 ^a	33 ^a	0 ^a	0 ^a
	Starter padat	67 ^a	50 ^a	300 ^a	230 ^a	180 ^a	83 ^a
	Tanpa starter	0 ^a	0 ^a	33 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a

Angka yang memiliki huruf yang sama pada masing-masing uji mikroorganisme dinyatakan tidak berbeda nyata pada analisis uji *Least Squares Means* pada taraf 5%.

Greenhill *et al.* (2009) melaporkan bahwa tepung sugu asam mengandung bakteri patogen seperti *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* dan *Staphylococcus aureus*. Adanya perlakuan fermentasi selama 21 hari menunjukkan penurunan jumlah bakteri-bakteri patogen tersebut. Hal ini dikarenakan kondisi lingkungan yang semakin asam dikarenakan meningkatnya konsentrasi asam-asam organik. Pada akhirnya hanya mikrob selektif saja yang mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang asam.

Selain bakteri asam laktat, kapang yang bersifat amilolitik juga mendominasi selama proses fermentasi. Greenhill (2007) menyatakan bahwa *Penicillium brevicompactum* dan *Aspergillus flavipes* merupakan kapang yang mendominasi pada tepung sugu asam pada penyimpanan kurang dari 1 minggu dan menunjukkan penurunan setelah disimpan lebih dari 5 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa tepung sugu asam hasil fermentasi masih banyak mengandung kapang. Seperti yang telah diketahui, kapang jenis *Penicillium sp* dan *Aspergillus sp* menghasilkan racun mikro toksin. Jika racun ini terkonsumsi dalam jumlah banyak maka akan mengakibatkan keracunan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi mampu menurunkan jumlah kapang dan khamir sampai hari ke-35. Kakou *et al.* (2010) melaporkan bahwa terjadi penurunan jumlah BAL, bakteri *coliform* dan kapang dan khamir pada tepung singkong terfermentasi spontan setelah difermentasi selama 2 hari. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Lacerda *et al.* (2005) bahwa terjadi penurunan jumlah BAL serta kapang dan khamir pada fermentasi tepung singkong selama 30 hari. Penurunan jumlah mikrob ini dapat disebabkan karena semakin asamnya tepung hasil fermentasi dari hari ke hari. Selain itu pengaruh dalam hal persaingan mendapatkan makanan juga berpengaruh terhadap pertumbuhan mikrob tersebut.

Berdasarkan data pada Tabel 8 maka proses fermentasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, kapang dan khamir serta total mikroba. Hal ini dapat terlihat dari jumlah mikrob tersebut yang berdasarkan uji statistik tidak berbeda nyata pada hari ke-0 sampai hari ke-35. Adanya kandungan asam yang meningkat selama proses fermentasi (Tabel 7) mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen, kapang dan khamir. Kandungan asam pada tepung sugu terfermentasi tersebut dapat dikatakan sebagai pengawet alami sehingga mampu menjaga kualitas produk sugu asam dari cemaran

mikroba. Data SNI tepung sugu menunjukkan batas maksimum cemaran kapang dan total mikroba adalah 10^4 koloni/g bahan dan 10^6 koloni/g bahan. Hal ini menunjukkan bahwa sugu asam yang dihasilkan selama proses fermentasi memiliki jumlah cemaran kapang dan total mikroba di bawah nilai SNI tepung sugu sehingga sugu asam aman untuk dikonsumsi (Tabel 8).

Sifat Visko-amilografi Tepung Sagu Terfermentasi

Proses fermentasi oleh BAL menyebabkan perubahan karakteristik kimia dan mutu tepung sugu, yang berakibat pada perubahan sifat fungsionalnya, khususnya sifat visco-amilografi. Suhu gelatinisasi menunjukkan suhu awal meningkatnya viskositas pati saat dipanaskan atau awal terjadinya gelatinisasi. Penurunan suhu gelatinisasi merupakan akibat dari melemahnya struktur granula dan disintegrasi selama proses fermentasi. Salah satu faktor yang mempengaruhi tinggi atau rendahnya suhu gelatinisasi adalah luas permukaan partikel tepung. Semakin kecil ukuran partikel tepung (luas permukaannya lebih besar) maka suhu gelatinisasi akan semakin rendah karena tepung lebih mudah menyerap air (Aini, 2010). Hasil yang sama dilaporkan oleh Yuan (2008) yang menyatakan bahwa proses fermentasi tepung jagung mampu menurunkan *pasting temperature* yang difermentasi selama 21 hari karena terhidrolisisnya amilopektin pada pati sugu. Data penelitian (Tabel 9 dan Gambar 4) menunjukkan adanya perbedaan suhu awal gelatinisasi pada perlakuan starter cair, starter padat, tanpa starter dibandingkan dengan pati tanpa proses fermentasi.

Proses fermentasi akan menurunkan ukuran partikel tepung sehingga luas permukaan partikel semakin besar dan akan mempengaruhi viskositas puncak menjadi lebih besar pula (Aini, 2010). Selain itu proses fermentasi juga meningkatkan rasio amilosa dan amilopektin. Hal ini dikarenakan adanya proses hidrolisis pati oleh mikroba sehingga dihasilkan amilosa dan amilopektin dalam jumlah yang besar.

Kandungan amilosa yang tinggi pada pati menghasilkan semakin banyak molekul-molekul amilosa yang terlarut saat gelatinisasi. Saat pendinginan, molekul-molekul amilosa tersebut teretrogradasi sehingga meningkatkan *setback viscosity* dan *final viscosity*. Semakin banyak kandungan amilosa maka *setback viscosity* dan *final viscosity* akan semakin meningkat.

Tabel 9. Karakteristik visco-amilografi pati sugu dari fermentasi hari ke-35

Pengamatan	Fermentasi hari ke-35			Pati sugu alami
	Starter cair	starter padat	tanpa starter	
<i>Pasting temperature</i> (°C)	73,70	71,65	74,15	73,65
<i>Peak viscosity</i> (cP)	4118	4663	4175	4559
<i>Hot paste viscosity</i> (cP)	800	1449	812	1046
<i>Breakdown viscosity</i> (cP)	3318	3214	3363	3473
<i>Setback viscosity</i> (cP)	894	1073	931	943
<i>Final viscosity</i> (cP)	1694	2552	1743	2029

Wan *et al.* (2011) juga melaporkan bahwa tepung gandum yang difermentasi selama 12 jam menggunakan *Lactobacillus plantarum* menghasilkan nilai *peak viscosity* dan *final viscosity* yang tinggi. Tepung gandum hasil fermentasinya memiliki tekstur kuat, tak mudah rapuh, lengket, dan kekenyalan yang baik sehingga tepung gandum ini baik digunakan untuk bahan pembuatan mie gandum. Loebis (2012) menyatakan bahwa nilai *peak viscosity* yang tinggi akan berpengaruh terutama pada tekstur produk yang diaplikasikan, karena semakin besar derajat viskositasnya maka tekstur yang dihasilkan akan semakin kuat dan tidak mudah rapuh. Yuan (2008) menyatakan bahwa proses fermentasi meningkatkan kekuatan gel pada tepung jagung. Akibat proses fermentasi ini, struktur rantai pendek amilopektin di wilayah amorf akan keluar dari molekul pati sehingga kepadatan cabang amilopektin berkurang. Hal ini memudahkan terjadinya retrogradasi sehingga meningkatkan kekuatan gel.

Hasil penelitian menunjukkan penggunaan starter cair dan tanpa starter memiliki nilai *final viscosity* yang lebih rendah dibandingkan dengan sagu alami. Hasil yang sama dilaporkan oleh Oke (2012) yang menunjukkan bahwa nilai *final viscosity* pada tepung cocoyam hasil fermentasi lebih rendah bila dibandingkan dengan tepung cocoyam tanpa fermentasi. Demiate (2011) menyatakan bahwa nilai *setback viscosity* dan *final viscosity* tepung tapioka hasil fermentasi lebih rendah dibandingkan tepung tapioka alami. Hal ini berkaitan dengan kandungan amilosa yang menurun karena degradasi amilosa saat fermentasi. Putri (2012) melaporkan bahwa penambahan starter *L. amylophilus* NBRC 15881 yang memiliki kemampuan amilolitik yang tinggi pada fermentasi mampu menurunkan nilai *peak viscosity* karena bakteri ini mampu menghidrolisis amilosa dan amilopektin dalam jumlah besar sehingga kandungan amilosa dan amilopektin pada

tepung menjadi rendah. Nilai *final viscosity* yang rendah pada tapioka asam akan memberikan tekstur yang baik pada produk tertentu, misalnya aplikasi tapioka asam pada produk *bakery* menghasilkan produk dengan tekstur yang lebih lembut (Demiate, 2011).

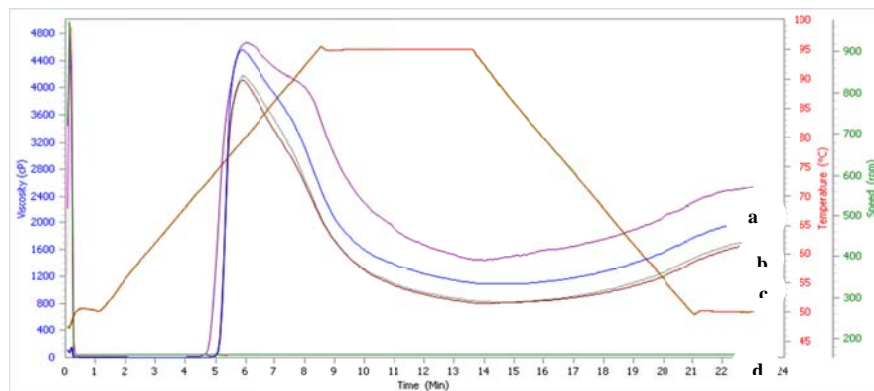
KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Isolat 5.2 mempunyai ciri-ciri morfologi sel batang, katalase negatif dan Gram positif. Isolat tersebut merupakan BAL heterofermentatif dan memiliki kemampuan menghasilkan asam organik. Berdasarkan ciri-ciri tersebut maka isolat 5.2 diduga termasuk ke dalam jenis *Lactobacillus sp.* Penggunaan nanoporous sagu sebagai bahan pelindung dalam pembuatan starter padat BAL hanya mampu menjaga sebagian viabilitas sel setelah proses *freeze drying*, serta tidak mampu mempertahankan viabilitas setelah disimpan pada suhu ruang. Proses fermentasi mampu mengubah karakteristik sagu asam yang dihasilkan. Penambahan bakteri asam laktat dalam bentuk starter cair mampu menghasilkan total asam pada tepung sagu yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan starter padat dan tanpa starter, yang juga menyebabkan penurunan viskositas maksimum dan viskositas akhir pada pati sagu asam yang dihasilkan.

Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengidentifikasi isolat 5.2 agar diketahui jenis isolat BAL yang digunakan dan pengujian sensitifitas isolat 5.2 terhadap antibiotik. Penambahan jenis bahan pelindung lain dapat dilakukan guna meningkatkan ketahanan BAL sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan lebih lama pada suhu ruang.



Gambar 4. Pengaruh fermentasi pada hari ke-35 terhadap sifat amilografi pati sagu pada berbagai perlakuan. a) starter padat, b) pati sagu alami, c) tanpa starter, d) starter cair

DAFTAR PUSTAKA

- Adegunwa MO, Sanni LO, dan Maziya DB. 2011. Effects of fermentation length and varieties on the pasting properties of sour cassava starch. *Afr J Biotechnol.*10(42): 8428-8433.
- AiniN, Hariyadi P, Muchtadi TR, Andarwulan N. 2010. Hubungan antara waktu fermentasi grits jagung dengan sifat gelatinisasi tepung jagung putih yang dipengaruhi ukuran partikel. *J Teknol dan Indust Pangan.* 21(1): 18-24.
- Aini N, Hariyadi P, Muchtadi TR, Andarwulan N. 2010. Hubungan sifat kimia dan rheologi tepung jagung putih dengan fermentasi spontan butiran jagung. *Forum Pascasarjana.* 32(1): 33-43.
- Andriani, Darmono, dan Kurniawati W. 2007. Pengaruh asam asetat dan asam laktat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonellasp.* yang diisolasi dari karkas ayam. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 930-934.
- Anggraeni YP dan Yuwono SS. 2014. Pengaruh fermentasi alami pada chips ubi Jalar (*Ipomomea batatas*) terhadap sifat fisik tepung ubi jalar terfermentasi. *J Pangan dan Agroindus.* 2(2):59 – 69.
- AOAC. 1994. *Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemist.* Washington D.C.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemist.* Washington D.C.
- Bamualim U dan Ulfah. 2002. Pemanfaatan ampas sagu (*Metroxylon sp*) non fermentasi dan fermentasi dalam ransum terhadap pertumbuhan ayam buras periode grower. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Chotiah S. 2006. Pengaruh proses *freeze drying* dan penyimpanan pada suhu kamar terhadap viabilitas plasma nutfah mikroba *Pasteurella Multocida.* *Buletin Plasma Nutfah.* 12(1): 40-44.
- Demiate IM dan Kotovicz V. 2011. Cassava starch in the Brazilian food industry. *Ciênc Tecnol Aliment.*31(2):388-397.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substance. *Anal Chem.* 28:350-356.
- Edema MO dan Sanni AI. 2008. Functional properties of selected starter cultures for sour maize bread. *Food Microbiol.* 25:616-625.
- Faridah DN, Fardiaz D, Andarwulan N, Sunarti TC. 2010. Perubahan struktur pati garut (*Maranta arundinaceae*) sebagai akibat modifikasi hidrolisis asam, pemotongan titik percabangan dan siklus pemanasan-pendinginan. *J Teknol dan Industri Pangan.* 21(2):135-142.
- Greenhill AR, Shipton WA, Blaney BJ, Warner JM. 2007. Fungal colonization of sago starch in Papua New Guinea. *Food Microbiol.*119:284–290.
- Greenhill AR, Shipton WA, Blaney BJ, Brock IJ, Kupz A, Warner JM. 2009. Spontaneous fermentation of traditional sago starch in Papua New Guinea. *Food Microbiol.* 26: 136–141.
- Gunaidi T, Margino S, Sembiring L, Pratiwi R. 2009. Seleksi bakteri amilolitik penghasil asam organik dari tepung basah masam. Prosiding Seminar Nasional Biologi XX. 846 – 851.
- Hardiningsih R, Napitupulu, dan Yulineri T. 2006. Isolasi dan uji resistensi beberapa isolat *Lactobacillus* pada pH rendah. *Biodiversitas.* 7(1):15 –17.
- Helmi H. 2011. Formulasi kultur starter untuk pembuatan tepung ubi kayu terfermentasi [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Illianingtyas F, Jenie BSL, Nuraida L, Setyahadi L. 2006. Aktivitas antikapang bakteri asam laktat terhadap pertumbuhan kapang kontaminan keju. *J Teknol dan Industri Pangan.* 17(1):58 – 66.
- Imanningsih N. 2012. Profil gelatinisasi beberapa formulasi tepung-tepungan. *Penel Gizi Makan.* 35(1):13-22.
- Jayakody L dan Hoover R. 2002. The effect of lintnerization on cereal starch granules. *Food Res Int.* 35:665-680.
- Kakou A, Guehi CT, Olo S, Kouame KA, Nevry FK, Koussemon M. 2010. Biochemical and microbial changes during traditional spontaneouslactic acid fermentation process using two varieties of cassava forproduction of a “Alladjan” starter. *Food Res Int.* 17: 563-573.
- Kanro MZ, Rouw A, Widjono A, Syamsuddin, Amisnaipa A. 2003. Tanaman sagu dan pemanfaatannya di Papua. *J Litbang Pert.* 22(3).116-124.
- Lacerda ICA, Miranda RL, Borelli BM, Nunes AC, Nardi RMD, Lachance MA, Rosa CA. 2005. Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil. *Int J Food Microbiol.*105:213–219.
- Loebis EH dan Meutia YR. 2012. Pembuatan starter mocaf terimobilisasi dari isolat bakteri asam laktat dan aplikasinya pada proses produksi mocaf. *J Hasil Penel Indus.* 25(1): 35-46.

- Ma X, Jian R, Chang PR, Ju Y. 2008. Fabrication and characterization of citric acid-modified starch nanoparticles/plasticized-starch composites. *Biomacromolecular*. 9(11): 3314-3320.
- Melliawati R, Rohmatussolihat, dan Octavina F. 2006. Seleksi mikroorganisme potensial untuk fermentasi pati sagu. *Biodiversitas*. 7(2):101-104.
- Moore JW, Stanistski CL, dan Jurs PC. 2011. *Chemistry : The Molecular Science*. USA: Cengage Learning, inc.
- Nisa FC, Kusnadi J, dan Crishnasari R. 2008. Viabilitas dan deteksi subletal bakteri probiotik pada susu kedelai fermentasi instan metode pengeringan beku. *Tekno Pert*. 9(1): 40-51.
- Nuryady MM, Istiqomah T, Faizah R, Ubaidillah S, Mahmudi Z, Sutoyo. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat asal yoghurt. *UNEJ J*. 1(5):1-11.
- Nurhayati. 2006. Kajian Proses Produksi dan Pemurnian Asam Laktat dari Hidrolisat Pati Sagu [Tesis]. Bogor (ID): Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Oke MO dan Bolarinwa IF. 2012. Effect of Fermentation on Physicochemical Properties and Oxalate Content of Cocoyam (*Colocasia esculenta*) Flour. *ISRN Agronomy*. 1-4.
- Pratama AY, Febriani RN, dan Gunawan S. 2013. Pengaruh ragi roti, ragi tempe, dan *Lactobacillus plantarum* terhadap total asam laktat dan pH pada fermentasi singkong. *J Teknik POMITS*. 2(1):90-92.
- Putri WD, Widyaningsih TD, dan Ningtyas DW. 2008. Produksi biolaktat kering kultur campuran *Lactobacillus sp* dan *Saccharomyces cereviceae*. *Tekno Pert*. 9(2):138-149.
- Putri WD, Haryadi, Marseno DW, Cahyanto MN. 2012. Role of lactic acid bacteria on structural and physicochemical properties of sour cassava starch. *APCBEE Procedia*. 2:104 – 109.
- Puspawati NN, Nuraida L, dan Adawiah DR. 2010. Penggunaan berbagai jenis bahan pelindung untuk mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat yang diisolasi dari air susu ibu pada proses pengeringan beku. *J Tekno Ind Pangan*. 12(1):59-65.
- Rachmawati I, Suranto, dan Setyaningsih R. 2005. Uji antibakteri bakteri asam laktat asal asinan sawi terhadap bakteri patogen. *Bioteknologi*. 2(2):43-48.
- Rakkar PS. 2007. Development of a gluten-free commercial bread [Thesis]. Scholarly Commons. AUT University.
- Reddy G, Altaf MD, Naveena BJ, Venkateshwar M, and Kumar EV. 2008. Amyolytic bacterial lactic acid fermentation, a review. *Biotechnol Adv*. 26: 22–34.
- Richana N, Budiayanto A, dan Mulyawati I. 2010. Pembuatan tepung jagung termodifikasi dan pemanfaatannya untuk roti. Prosiding Pekan Serealia Nasional. 446-454.
- Sari RA, Noviani R, dan Ardiningsih P. 2012. Karakterisasi bakteriasam laktat genus *Leuconostoc* dari pekasam ale-ale hasil formulasi skala laboratorium. *JKK*. 1(1):14-20.
- Savic D, Savic T, Skrinjar M, Jokovic N. 2007. Profile of lactic acid bacteria in rye flour and sourdough. *Culture Collections*. 5:38-45.
- Shima AR, Salina HF, Maznisa M, Atiqah AH. 2012. Viability of lactic acid bacteria in home made yogurt containing sago starch oligosaccharides. *Int J Basic and App Sci*. 12(1): 58-62.
- Salminen S dan Von WA. 1998. *Lactid Acid Bacteria : Microbiology and Functional Aspects*. 2nd Ed: New York: Marcel Dekker Inc.
- Sobowale, Olurin, dan Oyewole. 2007. Effect of lactic acid bacteria starter culture fermentation of cassava on chemical and sensory characteristics offufu flour. *Afr J Biotechnol*. 6(16):1954-1958.
- Sri JS, Seethadevi A, Prabha KS, Muthuprassana P, Pavitra P. 2012. Microencapsulation : A review. *Pharma and Bio Scie*. 3(1): 509-531.
- Suardana IW, Suarsana IN, dan Wiryawan KG. 2007. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari cairan rumen sapi bali sebagai kandidat biopreservatif. *J Veteriner*. 8(4):155-159.
- Suarsana IY. 2010. Karakteristik fisikokimia bakteriosin yang diekstrak dari yogurt. *Buletin Veteriner*. 3(1):1-18.
- Suryani Y, Astuti, Oktavia B, Umniyati S. 2010. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah kotoran ayam sebagai agensi probiotik dan enzim kolesterol reduktase. Prosiding Seminar Nasional Biologi. 138-147.
- Tamime AY dan Robinson RK. 1999. *Yoghurt Science and Technology* (2nd Ed.). Woodhead Publishing Ltd. Cambridge England.
- Wan J, Huang W, Zhong J, Huang L, Duarte PR, Liu B. 2011. Effect of LAB fermentation on physical properties of oat flour and its suitability for noodle making. *Cereal Chem*. 88(2): 153-158.
- Wikandari PR, Suparmo, Marsono Y, Rahayu ES. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Natur Indonesia*. 14(2):120-125.

- Winarti C, Sunarti TC, Mangunwidjaja J, Richana M. 2013. Potensi dan aplikasi pati termodifikasi sebagai bahan matriks enkapsulasi senyawa bioaktif herbal. *Bul Teknol Pascapanen Pert.* 9(2):83-94.
- Wu W, Roe WS, Gimino VG, Seriburi V, Martin DE and Knapp SE. 2000. Low melt encapsulation with high laurate canola oil. US. Patent 6 :153-326.
- Yuan ML, Lu ZH, Cheng YQ, Li TL. 2008. Effect of spontaneous fermentation on the physical properties of corn starch and rheological characteristics of corn starch noodle. *J Food Eng.* 85:12-17.
- Yuliana N. 2008. Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolat T5 yang berasal dari tempoyak. *J Teknol Ind dan Hasil Pert.* 3(2):108-116.
- Yulineri T dan Nurhidayat T. 2012. Analisis viabilitas probiotik *Lactobacillus* terenkapsulasi dalam penyalut dekstrin dan jus markisa (*Passiflora edulis*). *J Tek Lingk.* 13(1):109-121.
- Zuidam NJ dan Nedovic VA. 2010. Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. Springer. USA.