

PENGGUNAAN SUBSTRAT WHEY TAHU UNTUK PRODUKSI BIOMASSA OLEH *PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS* E.1222

THE USE OF TOFU WHEY FOR BIOMASS PRODUCTION BY *PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS* E.1222

Yeni¹⁾, Anja Meryandini^{1,2)}, dan Titi Candra Sunarti^{3)*}

¹⁾Program Studi Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor

²⁾Program Studi Mikrobiologi, Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor

³⁾Departemen Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga, PO Box 220 Bogor 16002, Indonesia
E-mail: titi-cs@ipb.ac.id

Makalah: Diterima 10 Desember 2015; Diperbaiki 9 Juli 2016; Disetujui 20 Juli 2016

ABSTRACT

*Lactic acid bacteria (LAB) has been widely used as a starter culture. The most important factor for developing industrial starter culture is the selection of a good and cheap medium. Tofu whey (TW) is the liquid waste of the tofu production which potentially be able to use as a growth medium for LAB. On this research, TW was fermented by *Pediococcus pentosaceus* E.1222 for 24 hour, at 37°C, pH 6, and without agitation. This work was conducted in several stages, first stage was selection of carbon source and the result showed that TW supplemented glucose gives the highest LAB number was 4.5×10^8 CFU/mL and spesific growth rate (μ_{max}) 0.65 h^{-1} . The next stage was determining glucose concentration and the highest growth was TW supplemented 5% glucose, where the number of LAB reached 1.4×10^{10} CFU/mL and μ_{max} 0.91 h^{-1} . The next stage was scaling up the starter production, fermentations were initially performed at scale 150 mL medium, then medium was scaled up to 500 mL and 1 L. The result showed a slight decreasing in number of LAB on each volume, from 1.1×10^{10} CFU/mL (150 mL), 1.09×10^{10} CFU/mL (500 mL), and 1.03×10^{10} CFU/mL (1L); and declining of μ_{max} is found to be $0.91-0.90 \text{ h}^{-1}$.*

Keyword: *Lactic acid bacteria, starter culture, tofu whey, *Pediococcus pentosaceus**

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang paling banyak digunakan sebagai kultur starter. Faktor penting dalam pengembangan kultur starter di industri adalah pemilihan media yang baik dan murah. Whey tahu (WT) merupakan limbah cair dari industri tahu dapat digunakan sebagai media pertumbuhan BAL. WT pada penelitian ini difermentasi oleh *Pediococcus pentosaceus* E.1222 dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, pH 6, dan tanpa pengadukan. Penelitian ini dilakukan beberapa tahap, diawali dengan pemilihan sumber karbon dan didapatkan WT suplementasi glukosa memberikan nilai total BAL $4,5 \times 10^8$ CFU/mL dan nilai laju pertumbuhan spesifik (μ_{maks}) tertinggi yaitu $0,65 \text{ jam}^{-1}$. Kemudian dilakukan penentuan konsentrasi glukosa, didapatkan konsentrasi glukosa 5% memberikan nilai total BAL $1,4 \times 10^{10}$ CFU/mL dan μ_{maks} $0,91 \text{ jam}^{-1}$. Tahap selanjutnya meningkatkan skala produksi, fermentasi diawali pada skala 150 mL, kemudian ditingkatkan menjadi 500 mL dan 1 L. Hasil proses fermentasi ini menunjukkan sedikit penurunan jumlah BAL pada setiap peningkatan volume yaitu $1,1 \times 10^{10}$ CFU/mL (150 mL), $1,09 \times 10^{10}$ CFU/mL (500 mL), dan $1,03 \times 10^{10}$ CFU/mL (1L); serta terjadi penurunan nilai μ_{maks} berturut-turut $0,91 \text{ jam}^{-1}$; $0,91 \text{ jam}^{-1}$; $0,90 \text{ jam}^{-1}$.

Kata kunci: bakteri asam laktat, kultur starter, whey tahu, *Pediococcus pentosaceus*

PENDAHULUAN

Kultur starter merupakan sejumlah besar sel mikroba yang paling tidak terdiri dari satu jenis mikroorganisme; yang ditambahkan ke dalam bahan baku untuk menghasilkan produk pangan fermentasi dengan cara mempercepat dan mengatur proses fermentasi tersebut (Leroy dan De Vuyst, 2004). Kultur starter dalam proses fermentasi digunakan dengan tujuan untuk meningkatkan laju fermentasi sehingga proses fermentasi menjadi lebih singkat, mengontrol proses fermentasi, dan mengurangi ketidakseragaman kualitas produk. Pada skala kecil proses fermentasi tergantung pada pertumbuhan

kontaminasi bakteri pengasam untuk menjaga proses fermentasi, namun hal ini akan membentuk ketidakseragaman produk yang dihasilkan, oleh karena itu penggunaan kultur starter akan menjaga keseragaman dan menentukan kualitas produk yang dihasilkan. Kriteria yang digunakan dalam pemilihan kultur starter untuk fermentasi antara lain harus dalam keadaan aktif sehingga akan meminimalkan fase lag, masih tetap aktif dengan viabilitas sel tinggi, bebas dari kontaminasi, pertumbuhan cepat dan dapat dipertahankan stabilitasnya, mampu memproduksi asam dan toleran terhadap asam, dan tidak sensitif terhadap fage. (Kimaryo *et al.*, 2000; Marcon *et al.*, 2006; Standbury dan Whitaker, 1984).

*Penulis untuk korespondensi

Kelompok BAL merupakan bakteri yang memiliki peran utama dalam proses fermentasi. Bakteri ini akan memulai proses pengasaman secara cepat pada bahan baku dengan memproduksi asam organik, terutama asam laktat. Selain itu, bakteri ini juga memproduksi asam asetat, etanol, komponen aromatik, bakteriosin, eksopolisakarida, dan beberapa enzim penting, sehingga bakteri ini mampu mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk (Leroy dan De Vuyst, 2004; Marcon *et al.*, 2006; Fowoyo dan Ogunbanwa, 2010; Omemu *et al.*, 2011).

Faktor penting dalam pengembangan kultur starter adalah pemilihan media pertumbuhan kultur. Media pengembangan starter harus mengandung nutrisi yang sesuai kebutuhan bakteri dan harus memiliki kesamaan dengan media produksi sehingga dapat meminimalkan waktu adaptasi dari kultur starter, mengurangi fase lag dan waktu fermentasi. Pada skala besar media kultur starter biasanya dibuat menggunakan sumber nutrisi yang murah tetapi tetap dapat menghasilkan rendeman produk dan konsentrasi biomassa yang maksimum dengan kualitas yang konsisten.

Media *de Mann Rogose and Sharpe* (MRS) adalah media spesifik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat, namun pada skala industri tidaklah efektif dikarenakan harga yang relatif tinggi, untuk itu dicari media pengganti yang harganya relatif murah namun mengandung sejumlah nutrisi penting yang dapat menunjang pertumbuhan kultur starter BAL. Salah satu media alternatif pengganti yang dapat digunakan adalah whey tahu (WT). WT merupakan limbah organik yang berasal dari industri tahu yang belum layak dibuang ke lingkungan. Jika WT tersebut dibuang langsung tanpa proses pengolahan akan terjadi pengendapan zat-zat organik pada badan perairan, proses pembusukan dan berkembangnya mikroorganisme patogen. Jumlah industri tahu di Indonesia pada 2010 mencapai 84.000 unit usaha yang dapat memproduksi lebih dari 2,56 juta ton per tahun dan menghasilkan whey tahu sebanyak 20 juta m³ per tahun. Sebagian besar industri tahu di Indonesia merupakan industri berskala kecil dan menengah yang belum mengelola limbah secara baik, sehingga limbah yang dibuang ke lingkungan berpotensi menimbulkan pencemaran. WT mengandung senyawa-senyawa organik, seperti N-organik (7,61%), gula total (0,32%), gula reduksi (0,09%), dan mineral. Komponen nutrisi yang lengkap dari WT terutama kandungan proteinnya diharapkan sesuai sebagai sumber N dan mineral untuk media starter BAL (Ghofar *et al.*, 2005; Ismawati *et al.*, 2015; Yuwono dan Sutopo, 2008).

Pemanfaatan WT sebagai media pertumbuhan BAL sudah dilaporkan Thi *et al.* (2003) bahwa bakteri *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* dapat tumbuh pada media WT dengan suplementasi ekstrak khamir, populasi bakteri mencapai $2,9 \times 10^9$ CFU/mL. Tripathi (2014)

mengkaji pemanfaatan WT untuk memproduksi strain probiotik dan antioksidan, dan dapat menumbuhkan populasi *L. casei* mencapai $1,7 \times 10^9$ CFU/mL. Ounis *et al.* (2008) memanfaatkan WT yang didemineralisasi untuk pertumbuhan *L. plantarum* LB17 dengan populasi mencapai $1,6 \times 10^9$ CFU/mL.

Pertumbuhan BAL yang tinggi akan dihasilkan jika BAL ditumbuhkan pada media yang mengandung sumber karbon dan nitrogen yang mencukupi. WT sebagai media pertumbuhan memiliki kelemahan yaitu kadar gula reduksi yang rendah dan kadar gula total tidak mencapai 1% (Harmayani *et al.*, 2009). Untuk mencukupi kelemahan tersebut dilakukan penambahan sumber karbon untuk meningkatkan pertumbuhan BAL dengan tetap memperhitungkan jumlah nitrogen yang ada, karena rasio C/N yang terkandung dalam media sangat mempengaruhi pertumbuhan BAL.

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi BAL dari hasil fermentasi spontan tepung jagung, bakteri ini mampu menghasilkan asam laktat yang tinggi, menghasilkan bakteriosin, dan memiliki nilai OD yang tinggi pada fase logaritmik. Bakteri ini teridentifikasi sebagai *Pediococcus pentosaceus*. (Rosyidah *et al.*, 2013). *P. pentosaceus* toleran terhadap asam dan pengembangan bakteri ini sangat penting karena kemampuannya sebagai kultur starter untuk memfermentasi berbagai makanan seperti daging, sayuran, dan keju. Selain itu pula bakteri ini sedang banyak diteliti karena kemampuan probiotik dan kemampuan dalam menghasilkan senyawa antimikrob (bakteriosin), yang mana akan sangat berguna dalam industri pengawetan makanan (Osmanagouglu *et al.*, 2001; Hu *et al.*, 2006; Jonganurakkun *et al.*, 2008). Kultur starter hasil penelitian ini dapat dikembangkan untuk berbagai fermentasi tepung, seperti fermentasi tapioka asam, sagu asam, tepung jagung untuk dapat memperbaiki tekstur tepung yang dihasilkan.

Penelitian ini bertujuan untuk merancang atau mendesain proses produksi starter BAL untuk industri menggunakan substrat WT, dengan mengkaji pengaruh penambahan sumber karbon pada beberapa skala produksi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi whey tahu (WT) yang diambil dari pabrik tahu yang berada di Pasar Cibeureum, Kabupaten Bogor. BAL yang digunakan adalah isolat lokal koleksi Laboratorium PPSHB-IPB hasil isolasi dari proses fermentasi spontan tepung jagung, yang teridentifikasi sebagai *Pediococcus pentosaceus* E.1222, media MRS agar (Merck), glukosa teknis, sukrosa teknis, akuades, K₂SO₄, HgO, H₂SO₄ pekat, NaOH, H₂BO₃, fenol 5%, indikator *fenolfthalin*.

Metode

Karakterisasi Bahan Baku

Karakterisasi komposisi kimia WT dengan analisis proksimat dengan metode AOAC (1995) meliputi kadar air, kadar abu, lemak kasar, serat kasar, protein kasar, analisis karbohidrat (*by difference*). Pengukuran pH dan kadar gula total dengan metode fenol-H₂SO₄ (Dubois *et al.*, 1956).

Penyiapan Kultur

Penyegaran dan Propagasi Kultur. Kultur stok BAL disiapkan dengan membuat media campuran 40 mL media MRS cair dan 10 mL larutan gliserol. Sebanyak 800 μ L media tadi dicampur dengan 200 μ L kultur bakteri *P. pentosaceus* (kultur bakteri pada jam ke-5-6 jam waktu fermentasi) pada tabung eppendorf steril, dan dengan segera diletakkan pada freezer. Kultur stok bakteri sebanyak 1 mL diinokulasikan ke dalam 9 mL media MRS steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Propagasi kultur dilakukan pada media campuran 80 mL MRS cair dengan 20 mL WT, yang kemudian dipisahkan ke dalam tabung ulir berisi 9 mL media propagasi. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit. Bakteri *P. pentosaceus* hasil peremajaan diinokulasikan sebanyak 1 mL dalam 9 mL media propagasi dan diinkubasi pada suhu 37°C hingga tercapai fase logaritmik dengan laju pertumbuhan spesifik (μ_{maks}) tertinggi (5-6 jam fermentasi, penentuan fase logaritmik berdasarkan hasil penghitungan jumlah koloni dengan TPC). Kultur hasil propagasi digunakan untuk uji kinerja starter skala laboratorium.

Formulasi Media untuk Produksi Starter

Formulasi media ditentukan berdasarkan persentase sumber karbon yang dapat menghasilkan biomassa sel yang tinggi, yaitu 2-5% (Kobayashi *et al.*, 2009).

Pemilihan Sumber Karbon

Percobaan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 3 perlakuan dan 3 kali ulangan, sebagai berikut :

- Perlakuan 1 : media whey tahu tanpa suplementasi (WT) (rasio C/N 0.3)
- Perlakuan 2 : media WT + glukosa 1% (rasio C/N 1,43)
- Perlakuan 3 : media WT + sukrosa 1% (rasio C/N 1,50)

Semua media yang digunakan dilakukan pengaturan pH 6 sebelum dilakukan sterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C. Percobaan dilakukan menggunakan botol Duran 200 mL dengan volume kerja 150 mL. Media diinokulasikan dengan bakteri *P. pentosaceus* (10%) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan pertumbuhan diamati setiap 1 jam selama 10 jam. Parameter yang diamati antara lain jumlah sel bakteri dengan metode

TPC (*total plate count*), nilai total gula dengan metode fenol (Dubois *et al.*, 1956), nilai total asam dengan metode titrasi (AOAC, 1995) sebagai produk fermentasi, dan parameter kinetika (μ_{maks} , Ks, $Y_{p/s}$, dan $Y_{x/s}$).

Parameter μ_{maks} menyatakan kecepatan sel tumbuh pada saat fase logaritmik. Nilai μ_{maks} merupakan slope dari persamaan yang diperoleh dari mengalurkan Ln jumlah koloni (N) terhadap waktu (t) pada waktu logaritmik sel, sementara nilai Ks merupakan intercept dari persamaan tersebut. Nilai $Y_{p/s}$ merupakan slope dari persamaan yang diperoleh dengan mengalurkan nilai total asam tertitrasi (p) terhadap substrat gula (s) pada waktu logaritmik sel, dan nilai $Y_{x/s}$ merupakan slope dari persamaan yang diperoleh dengan mengalurkan nilai Ln jumlah koloni (N) terhadap substrat gula (s) pada waktu logaritmik sel (Palaniraj dan Nagarajan, 2012). Parameter utama yang digunakan sebagai dasar untuk pengembangan starter tahap selanjutnya adalah perlakuan media yang memberikan jumlah BAL tertinggi dan nilai laju pertumbuhan spesifik maksimum (μ_{maks}) tertinggi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan $\alpha = 5\%$.

Pengaruh Konsentrasi Sumber Karbon

Tahapan penelitian sebelumnya didapatkan bahwa sumber karbon terpilih untuk meningkatkan pertumbuhan BAL adalah media WT + glukosa. Pada tahap ini percobaan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan dan 3 kali ulangan, sebagai berikut :

- Perlakuan 1 : media WT + glukosa 1% (rasio C/N 1.43)
- Perlakuan 2 : media WT + glukosa 2% (rasio C/N 2.85)
- Perlakuan 3 : media WT + glukosa 5% (rasio C/N 7.14)
- Perlakuan 4 : media WT + glukosa 10% (rasio C/N 14.85)
- Perlakuan 5 : media WT (kontrol negatif)
- Perlakuan 6 : media MRS cair (kontrol positif)

Percobaan dan pengamatan dilakukan dengan prosedur yang sama pada tahap sebelumnya.

Peningkatan Skala Produksi

Peningkatan skala dilakukan dengan cara *cascade* (bertahap) menggunakan formulasi media terpilih yang didapat pada tahap sebelumnya (WT + glukosa 5%). Percobaan dilakukan menggunakan RAL dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan, sebagai berikut:

- Perlakuan 1 : skala media 150 mL
- Perlakuan 2 : skala media 500 mL
- Perlakuan 3 : skala media 1 L

Bakteri *P. pentosaceus* (10%) diinokulasikan kedalam media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan pertumbuhan diamati setiap 1 jam selama 10 jam. Parameter yang diamati antara lain jumlah sel bakteri dengan metode TPC, nilai total gula dengan metode fenol (Dubois *et al.* 1956), nilai total asam metode titrasi (AOAC, 1995) sebagai produk fermentasi, dan parameter kinetika (μ_{maks} , K_s , $Y_{p/s}$, dan $Y_{x/s}$). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

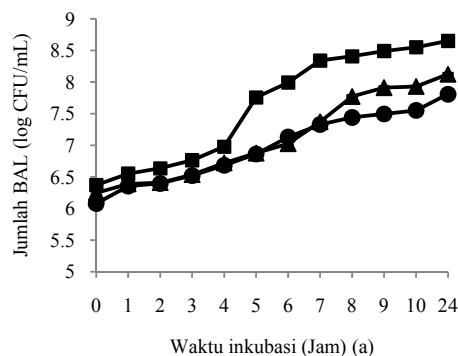
Karakteristik Whey Tahu

Whey merupakan limbah cair yang dikeluarkan oleh industri pengolahan kedelai menjadi tahu. Air merupakan komponen yang terbesar, protein terlarut merupakan komponen yang paling dominan, sebagaimana terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia whey tahu*

| Komponen | Jumlah (%bb) | Jumlah (% bk) |
|--------------------------------------|--------------|---------------|
| Air | 98,02 | |
| Abu | 0,11 | 5 |
| Lemak kasar | 0,11 | 5 |
| Protein kasar | 1,75 | 88,38 |
| Serat kasar | 0,003 | 0,1 |
| Karbohidrat (<i>by difference</i>) | 0,01 | |
| Total gula | 0,26 | |
| pH | 4,05 | |
| Rasio C/N | 0,3 | |

*Keterangan : data merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan

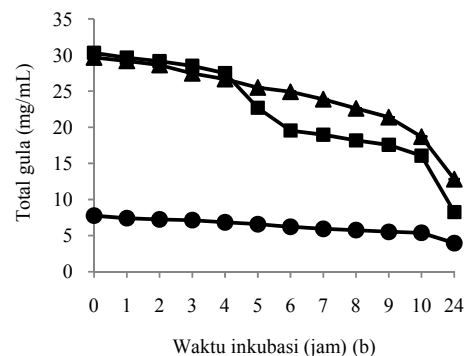


Hasil analisis menunjukkan bahwa media WT merupakan media yang baik digunakan untuk pertumbuhan BAL karena masih mengandung sejumlah senyawa N yang dapat dimanfaatkan untuk kelangsungan hidup bakteri. Beberapa penelitian telah mengkaji pemanfaatan WT sebagai sumber N untuk media pertumbuhan BAL (Ben-Ounis *et al.*, 2007; Harmayani *et al.*, 2009; Kurniasari *et al.*, 2011; Thi *et al.*, 2003; Tripathi, 2014; Tripathi *et al.*, 2014; Yuwono dan Hadi, 2008; Yuwono dan Kokugan, 2009). Hasil analisis menunjukkan kandungan total gula rendah (0,26%) yang merupakan kelemahan utama dari media ini. Oleh karena itu, untuk memperoleh pertumbuhan sel bakteri yang optimal perlu dilakukan penambahan sumber karbon. Hal ini senada dengan Harmayani *et al.* (2009), WT memiliki kelemahan yaitu kadar gula reduksi yang rendah dan kadar gula total tidak mencapai 1%, sehingga perlu dilakukan penambahan sumber karbon lain untuk menunjang pertumbuhan bakteri.

Formulasi Media untuk Starter

Pemilihan Sumber Karbon

Tahapan ini dilakukan untuk menyeleksi sumber karbon terbaik untuk meningkatkan pertumbuhan BAL. Pemilihan glukosa dimaksudkan untuk mensubstitusi sumber karbon seperti yang terkandung pada media MRS. Sukrosa dipilih karena gula utama yang terkandung di dalam WT adalah sukrosa (Thi *et al.*, 2003), penambahan sukrosa diharapkan mampu lebih meningkatkan pertumbuhan BAL. Pengaruh penambahan sumber karbon dengan jenis yang berbeda terhadap jumlah BAL dan konsumsi gula dapat dilihat pada Gambar 1a dan 1b.



Gambar 1. Pengaruh penambahan sumber karbon terhadap (a) pertumbuhan *P. pentosaceus*, (b) total gula pada media whey tahu (—●—), disuplementasi dengan glukosa (—■—), dan sukrosa (—▲—) yang diinkubasi 24 jam suhu 37 °C, pH 6

Jumlah populasi bakteri *P. pentosaceus* pada ketiga media perlakuan menunjukkan peningkatan sejalan dengan meningkatnya waktu fermentasi (Gambar 1a). Penambahan sumber karbon pada media WT diketahui berpengaruh terhadap jumlah BAL dan hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa jumlah BAL ketiga media berbeda nyata ($P < 0,05$). Jumlah BAL tertinggi setelah 24 jam fermentasi dicapai pada media WT + glukosa 1% ($4,5 \times 10^8$ CFU/mL) dan diikuti dengan media WT+sukrosa 1% ($1,3 \times 10^8$ CFU/mL) dan media WT ($6,4 \times 10^7$ CFU/mL) (Tabel 2). Tingginya jumlah BAL pada media WT+glukosa 1% dikarenakan perbedaan proses fermentasi yang terjadi akibat perbedaan struktur molekul kedua sumber karbon yang digunakan. Glukosa sebagai monosakarida merupakan senyawa yang langsung dapat digunakan secara penuh oleh bakteri *P. pentosaceus* dalam metabolismenya, sedangkan sukrosa yang merupakan disakarida harus melalui tahap hidrolisis atau inverse menjadi glukosa dan fruktosa untuk selanjutnya digunakan oleh bakteri dalam metabolisme. Goderska *et al.* (2008) menyatakan glukosa merupakan sakarida termudah untuk dimetabolisme oleh bakteri. Yeh *et al.* (2008) menyatakan hal serupa, glukosa merupakan monosakarida yang paling baik dimanfaatkan oleh BAL strain *Pediococcus*.

Peningkatan jumlah BAL diikuti penurunan nilai total gula seiring dengan lamanya waktu fermentasi (Gambar 1b). Hal ini menandakan bahwa selama fermentasi berlangsung, BAL mengkonsumsi gula yang tersedia untuk tumbuh dan memelihara sel. Yuliana (2010) menyatakan bahwa secara umum substrat dimanfaatkan mikroorganisme untuk pertumbuhan biomassa, pemeliharaan sel, dan membentuk asam organik sebagai produk.

Berdasarkan hasil pengukuran total gula diketahui bahwa BAL pada media WT + glukosa 1% mampu mengkonsumsi glukosa sebesar 72,76% pada akhir proses fermentasi (24 jam), sementara pada media WT dan WT + sukrosa 1%, gula yang berhasil dikonsumsi oleh bakteri hanya 49,35% dan 56,81%. Besarnya total gula yang dikonsumsi bakteri *P. pentosaceus* pada media WT + glukosa 1% diduga digunakan untuk pertumbuhan sel sehingga terukur jumlah BAL tertinggi. Hal ini didukung oleh Busairi (2010) menyatakan bahwa peningkatan jumlah total gula yang dimetabolisme

sejalan dengan tingginya jumlah bakteri yang tumbuh pada media fermentasi.

Hasil pengukuran terhadap parameter kinetika pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa jumlah BAL berkorelasi positif terhadap nilai μ_{maks} yang diperoleh. Data yang diperoleh disajikan pada Tabel 2.

Media WT + glukosa 1% memiliki nilai μ_{maks} tertinggi (Tabel 2). Hal ini dikarenakan *P. pentosaceus* lebih mudah memfermentasi glukosa yang terkandung pada media sehingga pertumbuhan sel meningkat cepat. Berbeda jauh dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Thi *et al.* (2003) yang mendapatkan nilai μ_{maks} bakteri *L. paracasei* ssp. *paracasei* yang tumbuh pada media WT yang mengandung glukosa hanya mencapai $0,36 \text{ jam}^{-1}$.

Secara umum substrat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan biomassa, pemeliharaan sel dan menghasilkan produk (Yuliana 2010). Produk yang terbentuk selama proses fermentasi berupa asam laktat mengingat bahwa *P. pentosaceus* merupakan BAL homofermentatif, artinya hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk fermentasi. Hasil perhitungan rendeman asam laktat yang dihasilkan per substrat glukosa yang dikonsumsi ($Y_{p/s}$) selama fermentasi tertinggi dicapai BAL pada media WT tanpa suplementasi (Tabel 2) artinya bahwa bakteri lebih efisien dalam memanfaatkan substrat gula yang terkandung dalam media, namun karena jumlah gula kecil maka jumlah BAL yang didapatkan rendah. Thi *et al.* (2003) menyatakan WT mengandung nutrisi yang baik dan siap digunakan oleh bakteri untuk tumbuh namun masih membutuhkan pengayaan untuk bisa menghasilkan pertumbuhan BAL yang optimal. Ounis *et al.* (2008), WT merupakan sumber karbohidrat yang baik serta kaya protein dan garam mineral, namun untuk dapat memperoleh jumlah BAL yang tinggi masih membutuhkan penambahan gula.

Growth yield ($Y_{x/s}$) adalah hasil bagi antara perubahan jumlah biomassa dengan substrat. Diketahui bahwa nilai $Y_{x/s}$ media WT tanpa suplementasi paling tinggi (Tabel 2). Nilai $Y_{x/s}$ yang tinggi pada media WT tanpa suplementasi menggambarkan kebutuhan nutrisi bakteri pada media tersebut juga tinggi, sesuai dengan Yuliana (2010) *growth yield* menggambarkan kebutuhan nutrisi oleh suatu mikroorganisme secara kuantitatif.

Tabel 2. Pengaruh penambahan sumber karbon terhadap parameter kinetika pertumbuhan bakteri *P. pentosaceus* pada media perlakuan

| Substrat | X_{max} (Log CFU/mL) | μ_{max} (Jam ⁻¹) | $Y_{p/s}$ | $Y_{x/s}$ (CFU/mg) | Ks (g/L) |
|------------------------|---------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------------------|-------------|
| Whey tahu | 7,81 ^c | 0,36 | 0,38 | 1,41 | 0,012 |
| Whey tahu + glukosa 1% | 8,65 ^a | 0,65 | 0,07 | 0,36 | 0,022 |
| Whey tahu + sukrosa 1% | 8,12 ^b | 0,37 | 0,14 | 0,36 | 0,01 |

Berdasarkan data-data yang diperoleh berupa parameter nilai μ_{maks} dan jumlah BAL yang tinggi diketahui bahwa glukosa merupakan sumber karbon terbaik untuk meningkatkan pertumbuhan BAL, mencapai $4,5 \times 10^8$ CFU/mL dan $0,65 \text{ jam}^{-1}$. Diketahui pula bahwa degradasi glukosa lebih mudah dibandingkan sukrosa, yang mana sukrosa merupakan gula utama yang terkandung dalam WT (Thi *et al.*, 2003). Pada metabolisme BAL homofermentatif, glukosa langsung dapat dimetabolisme menjadi asam laktat melalui jalur Embden-Mayerhof, sementara sukrosa harus diinvers terlebih dahulu dengan enzim β -fructofuranosidase menjadi glukosa dan fruktosa untuk nantinya bisa dimetabolisme oleh BAL.

Pengaruh Konsentrasi Sumber Karbon

Pengamatan dilakukan dengan melihat pengaruh konsentrasi glukosa terhadap jumlah BAL dan nilai total gula yang disajikan pada Gambar 2a dan 2b. Hasil pengamatan terhadap jumlah BAL diketahui bahwa jumlah BAL meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi glukosa yang digunakan sampai pada batas glukosa 5%, ketika konsentrasi glukosa dinaikkan 10% jumlah BAL menurun (Gambar 2a). Hal ini dikarenakan adanya penghambatan oleh substrat yang merupakan ciri dari fermentasi *batch*. Pattnaik *et al.* (2005) menyatakan tingginya konsentrasi substrat glukosa akan menurunkan jumlah bakteri dan produksi bakteriosin, penghambatan ini disebabkan karena adanya represi katabolik.

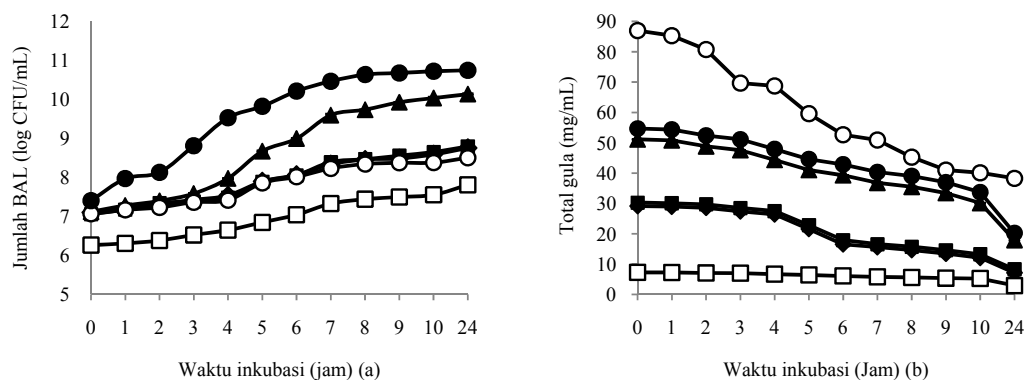
Hasil *analysis of variance* terhadap jumlah BAL diketahui bahwa perlakuan konsentrasi glukosa berpengaruh terhadap respon jumlah BAL dan berdasarkan hasil uji lanjut Duncan ($P < 0,05$) diketahui bahwa setiap perlakuan menunjukkan perbedaan nyata terhadap kontrol, dan glukosa 1% dan 2% tidak berbeda nyata, 5% dan 10% berbeda nyata dengan semua perlakuan. Hasil pengamatan yang diperoleh bahwa jumlah BAL tertinggi

diperoleh pada media WT + glukosa 5% mencapai $1,4 \times 10^{10}$ CFU/mL, jumlah ini yang paling mendekati jumlah BAL pada media MRS sebagai kontrol positif ($5,6 \times 10^{10}$ CFU/mL).

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Ghofar *et al.* (2005) yang melakukan suplementasi glukosa 5% pada media limbah cair tahu berhasil mendapat jumlah bakteri *Streptococcus bovis* mencapai $9,3 \log \text{ CFU/mL}$, dan menyatakan bahwa formulasi media tersebut merupakan komposisi media terbaik yang dapat meningkatkan viabilitas bakteri *S. bovis* dan meningkatkan produksi asam laktat. Kobayashi *et al.* (2009), konsentrasi optimum sumber karbon untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri dan produksi bakteriosin adalah 2–5%

Pengamatan terhadap total gula diketahui bahwa jumlah total gula semakin menurun sejalan dengan lamanya waktu fermentasi (Gambar 2b) dan konsumsi glukosa semakin meningkat seiring dengan tingginya konsentrasi glukosa yang ditambahkan. Didapatkan bahwa bakteri *P. pentosaceus* mampu memanfaatkan glukosa yang terkandung pada media sebesar 56–65%, dengan konsumsi gula tertinggi diperoleh pada media WT + glukosa 5% sebesar 65% sejalan dengan jumlah BAL tertinggi juga dicapai pada media tersebut. Kurniasari *et al.* (2011) juga mendapatkan bakteri *P. acidilactici* F11 hanya mampu memanfaatkan 48–70% gula yang terkandung pada media whey tahu suplementasi air kelapa.

Data parameter kinetika bakteri *P. pentosaceus* disajikan pada Tabel 3. Diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi glukosa yang ditambahkan pada media WT maka nilai μ_{maks} juga semakin tinggi dan menurun ketika konsentrasi glukosa terlalu tinggi (10%). Nilai μ_{maks} tertinggi dicapai bakteri *P. pentosaceus* pada media WT+glukosa 5% yaitu $0,91 \text{ jam}^{-1}$. Tingginya nilai μ_{maks} disebabkan karena tingginya aktivitas reproduksi sel bakteri.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi glukosa terhadap (a) jumlah BAL (b) nilai total gula pada media WT+glukosa 1% (—●—); WT + glukosa 2% (—■—); WT + glukosa 5% (—▲—); WT+glukosa 10% (—○—); WT (—□—); MRS (—●—) yang diinkubasi 24 jam, suhu 37°C pH 6

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi glukosa terhadap parameter kinetika pertumbuhan bakteri *P. pentosaceus* pada media perlakuan

| Substrat | X_{max} (Log CFU/mL) | μ_{max} (Jam ⁻¹) | $Y_{p/s}$ (mg/mL) | $Y_{x/s}$ (CFU/mg) | Ks (g/L) |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------------------|----------------------|-----------------------|-------------|
| Whey tahu + glukosa 1% | 8,75 ^c | 0,50 | 0,06 | 0,21 | 0,011 |
| Whey tahu + glukosa 2% | 8,79 ^c | 0,66 | 0,06 | 0,22 | 0,017 |
| Whey tahu + glukosa 5% | 10,13 ^b | 0,91 | 0,07 | 0,32 | 0,033 |
| Whey tahu + glukosa 10% | 8,50 ^d | 0,40 | 0,02 | 0,06 | 0,025 |
| Whey tahu | 7,80 ^e | 0,31 | 0,47 | 1,33 | 0,002 |
| MRS | 10,7 ^a | 1,1 | 0,34 | 0,44 | 0,084 |

Yeh *et al.* (2008) mendapatkan hasil bahwa besarnya nilai μ_{maks} yang diperoleh seiring dengan banyaknya jumlah bakteri *P. acidilactici* yang ditumbuhkan pada media M-17 cair yang disuplementasi dengan fruktosa, sukrosa, glukosa, fruktooligosakarida dari chicory (FOSc), hidrosilat campuran yang dibuat dari daun wolfberry Cina (H1+H2). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai μ_{maks} bakteri *P. pentosaceus* pada media semi padat berbahan dasar tepung jagung putih yang hanya 0,47 jam⁻¹ (Escamilla-Hurtado *et al.*, 2005).

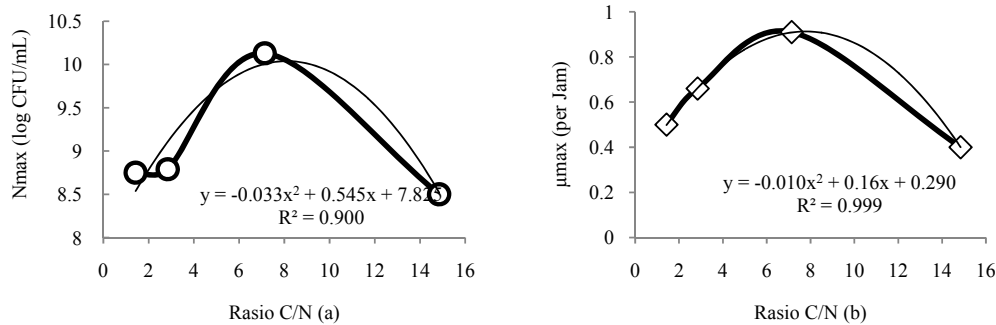
Nilai $Y_{p/s}$, $Y_{x/s}$ dan Ks yang diperoleh pada media perlakuan semakin tinggi sejalan dengan meningkatnya konsentrasi glukosa yang ditambahkan pada media whey tahu, dan menurun pada konsentrasi glukosa terlalu tinggi (10% glukosa) (Tabel 3). Palaniraj dan Nagarajan (2012) mempelajari kinetika produksi asam laktat menggunakan *L. casei* mendapatkan nilai $Y_{p/s}$, $Y_{x/s}$, dan Ks berubah meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi glukosa di awal, dan menurun pada konsentrasi gula terlalu tinggi.

Berdasarkan variasi rasio C/N yang digunakan pada tahapan ini, dapat dilihat pengaruhnya terhadap jumlah BAL (N_{maks}) dan nilai μ_{maks} yang disajikan pada Gambar 3a dan 3b. Berdasarkan nilai R^2 yang diperoleh melalui persamaan polinomial diketahui bahwa rasio C/N berkorelasi positif dengan nilai μ_{maks} (nilai $R^2 = 0,999$) dan nilai N_{maks} (nilai $R^2 = 0,900$) (Gambar 3a dan 3b). Hasil penurunan persamaan kuadrat yang

didapat, diketahui bahwa rasio C/N optimum yang dapat menghasilkan jumlah BAL (N_{maks}) terbaik adalah 8,2, sementara untuk mendapatkan nilai μ_{maks} terbaik adalah 8. Rasio C/N ini dapat digunakan sebagai acuan dalam merancang media fermentasi untuk memproduksi kultur starter sehingga didapatkan jumlah BAL dan nilai μ_{maks} yang tinggi menggunakan *P. pentosaceus*.

Rasio C/N sangat mempengaruhi nilai N_{maks} dan μ_{maks} yang dihasilkan, sebagaimana diketahui bahwa sumber karbon dan sumber nitrogen mempengaruhi pertumbuhan sel, karena nitrogen berfungsi sebagai bahan dasar protein, asam nukleat, dan koenzim. Hasil pengamatan diketahui bahwa semakin tinggi rasio C/N media nilai N_{maks} dan μ_{maks} semakin tinggi, dan menurun pada rasio C/N tertinggi (Gambar 3a dan 3b).

Tingginya rasio C/N yang digunakan pada penelitian dikarenakan tidak adanya suplementasi sumber nitrogen sementara terjadi penambahan glukosa sebagai sumber karbon. Nilai μ_{maks} dan N_{maks} tertinggi diperoleh pada media dengan rasio C/N 7,4 (glukosa 5%) sebesar 0,91 jam⁻¹; $1,04 \times 10^{10}$ CFU/mL. Tingginya jumlah BAL dan nilai μ_{maks} mengindikasikan bahwa konsentrasi glukosa mempengaruhi pertumbuhan BAL. Sesuai dengan De Vuyst *et al.* (2006), produksi biomassa tergantung pada tersedianya glukosa. Rasio C/N terbaik yang didapat pada penelitian ini masih termasuk ke dalam syarat rasio C/N untuk pertumbuhan biomassa bakteri, yaitu 7-10 (Riadi, 2007).



Gambar 3. Pengaruh variasi rasio C/N terhadap pertumbuhan bakteri yang dilihat dengan parameter (a) jumlah BAL (N_{maks}) (—○—) dan (b) nilai μ_{maks} (—◇—) pada media perlakuan yang diinkubasi selama 24 jam, suhu 37°C, pH 6

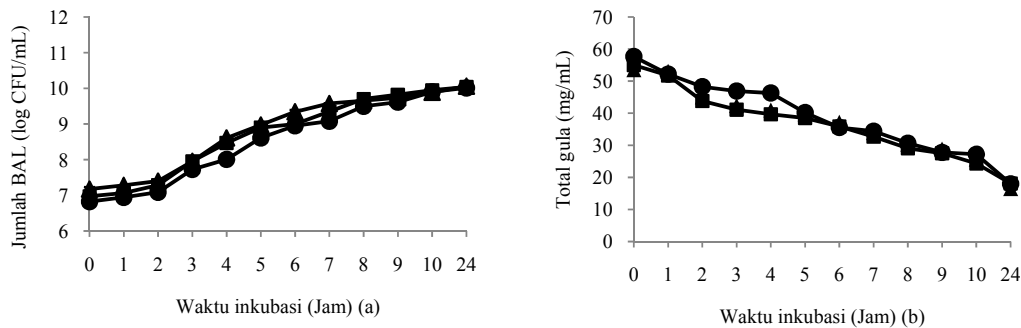
Beberapa penelitian sebelumnya yang mengkaji pengaruh rasio C/N terhadap produksi biomassa antara lain Seesuriyachan *et al.* (2011) memperoleh rasio C/N 2 memberikan biomassa *L. confusus* TISTR 1498 tertinggi (2,54 g/L). Manochai *et al.* (2014) memperoleh rasio C/N 2,26 memberikan biomassa *L. confusus* TISTR 1498 tertinggi (2,78 g/L) dengan rendeman ekopolisakarida tertinggi pula mencapai 114,72 g/L. Jin Bo *et al.* (2005) memperoleh rasio C/N 3,5–5 memberikan biomassa dan produksi asam laktat tertinggi oleh *Rhizophus oryzae*. Aspmo *et al.* (2005) memperoleh rasio C/N 3,4 memberikan biomassa *L. sakei* (0,68 g/L) dan nilai μ_{maks} (0,37 jam⁻¹) tertinggi. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, rasio C/N yang dibutuhkan pada penelitian ini cukup tinggi untuk memperoleh biomassa tertinggi, hal ini mengindikasikan bahwa kebutuhan C/N setiap jenis organisme berbeda-beda.

Peningkatan Skala Produksi

Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan *P. pentosaceus* baik pada skala 150 mL; 500 mL; dan 1L menunjukkan pola yang sama (Gambar 4a), dimana bakteri mengalami fase lag (adaptasi) yang singkat (jam ke-0 sampai jam ke-2), fase log (eksponensial) pada jam ke-2 sampai ke-8, selanjutnya bakteri memasuki stasioner sampai jam ke-24. Berdasarkan hasil *analysis of variance* diketahui bahwa skala media berpengaruh terhadap jumlah BAL, hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa jumlah BAL pada ketiga skala berbeda nyata. Walaupun jumlah BAL menunjukkan perbedaan nyata namun pada jumlah sebenarnya perbedaan jumlah BAL tidak memiliki arti dan jumlah BAL tersebut masih termasuk kedalam syarat sebagai kultur starter (10⁷–10⁸ CFU/mL).

Jumlah BAL pada ketiga skala pada akhir waktu fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil yang diperoleh ini masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan Escamilla-Hurtado *et al.* (2005) jumlah bakteri *P. pentosaceus* yang ditumbuhkan pada media semi padat berbahan dasar tepung jagung putih sebesar 9,74 log CFU/mL. Tingginya jumlah BAL yang diperoleh pada penelitian ini dikarenakan perbedaan komposisi media pertumbuhan. Abdel-Rahman *et al.* (2011) mengatakan viabilitas mikroba bervariasi tergantung pada genetik, struktur dan fisiologi sel, serta komposisi media pertumbuhan.

Pengamatan terhadap nilai total gula setelah 24 jam fermentasi juga terjadi penurunan dengan pola yang hampir sama (Gambar 4b). Diketahui bahwa gula yang mampu dikonsumsi bakteri *P. pentosaceus* pada skala 150 mL; 500 mL; dan 1L berturut-turut sebesar 70,27%; 67,11%; dan 67,71%. Tingginya konsentrasi total gula yang tersisa pada media mengindikasikan bahwa nutrisi pada media sedikit. Sejalan dengan Ben-Ounis *et al.* (2008), tingginya sisa total gula pada media (>30%) menerangkan bahwa akhir fermentasi terjadi bukan karena kurangnya karbohidrat tetapi karena kurangnya nutrisi pada media. Besarnya konsumsi gula yang didapat hampir serupa dengan yang diperoleh Ben-Ounis *et al.* (2008), bakteri *L. plantarum* hanya mampu mengkonsumsi 60% gula yang tersedia pada media WT yang didemineralisasi. Liu *et al.* (2013) juga mendapatkan bakteri *P. pentosaceus* hanya mampu mengkonsumsi 63% gula yang tersedia pada media MRS suplementasi glukosa 5%. Nilai μ_{maks} yang diperoleh pada ketiga skala terlihat stabil. Laju konsumsi glukosa (substrat) dapat dilihat dari nilai $Y_{p/s}$ dan $Y_{x/s}$, data disajikan pada Tabel 4.



Gambar 4. Pengaruh penggandaan skala media terhadap (a) jumlah BAL (b) nilai total gula pada skala 150 mL (—▲—); skala 500 mL (—■—); skala 1L (—●—)

Tabel 4. Pengaruh penggandaan skala terhadap parameter kinetika pertumbuhan bakteri *P. pentosaceus* pada media perlakuan

| Skala proses | X_{max} (Log CFU/mL) | μ_{max} (Jam ⁻¹) | $Y_{p/s}$ (mg/mL) | $Y_{x/s}$ (CFU/mg) | K_s (g/L) |
|--------------|---------------------------|-------------------------------------|----------------------|-----------------------|----------------|
| 150 mL | 10,05 ^a | 0,91 | 0,05 | 0,23 | 0,023 |
| 500 mL | 10,04 ^b | 0,91 | 0,05 | 0,22 | 0,020 |
| 1L | 10,01 ^c | 0,90 | 0,05 | 0,21 | 0,021 |

Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa nilai $Y_{p/s}$ ketiga skala lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai $Y_{x/s}$, artinya bahwa sejumlah besar gula yang dikonsumsi digunakan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel dibandingkan untuk pembentukan produk asam laktat. Hal ini sesuai dengan tujuan dari penelitian ini yaitu untuk meningkatkan produksi sel bakteri yang akan digunakan sebagai kultur starter.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Whey tahu adalah limbah cair dari industri tahu yang mengandung komponen utama protein terlarut, sehingga dapat digunakan sebagai media kultur starter BAL berdasarkan komposisi kimia yang terkandung, namun suplementasi sumber karbon akan meningkatkan laju pertumbuhan BAL.

Sumber karbon terbaik untuk meningkatkan pertumbuhan BAL adalah glukosa, dengan konsentrasi 5%.

Peningkatan skala produksi kultur starter dari skala 150 mL sampai 1 L menunjukkan peningkatan pertumbuhan BAL dengan laju pertumbuhan dan jumlah sel yang signifikan, meskipun nilainya relatif kecil.

Saran

Perlu dilakukan pengujian kinerja kultur starter bakteri *P. pentosaceus* dengan formulasi media kultur yang telah dihasilkan terhadap proses fermentasi dan produk yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Analytical Chemist. 1995. Official Methods of Analysis. Washington DC (US): Assoc of Official Analytical Chemist.
- Abdel-Rahman MA, Tashiro Y, dan Sonomoto K. 2011. Lactic acid production from lignocellulose derived sugars using lactic acid bacteria : review and limits. *J Biotechnol.* 156 : 286 – 301.
- Aspmo SI, Horn SJ, dan Eijsink VGH. 2005. Hydrolysates from Atlantic cod (*Gadus morhua* L) viscera as components of microbial growth media. *Proc Biochem.* 40 : 3714-3722.
- Busairi AM. 2010. Effect of nitrogen sources and initial sugar concentration on lactic acid fermentation of pineapple waste using *Lactobacillus delbrueckii*. *J Teknik.* 1(31) : 10-17.
- De Vuyst L, Callewaert R, dan Crabbe K. 2006. Primary metabolite kinetics of bacteriocins biosynthesis by *Lactobacillus amylovorus* evidence for stimulation of bacteriocin production under unfavourable growth conditions. *J Microbiol.* 142 : 817-827.
- Escamilla-Hurtado ML, Valdes-Martinez SE, Sariano-Santos J, Gomez-Pliego R, Verde-Calvo JR, Reyes-Dorantes A, dan Tomasini-Campocoso A. 2005. Effect of culture condition on production of butter flavor compounds by *Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus acidophilus* in semisolid maize-based cultures. *Int J Food Microbiol.* (105) : 305-316.
- Fowoyo PT dan Ogunbanwa ST. 2010. Phenotypic diversity of lactic acid bacteria isolated from massa a fermented maize dough. *Afr J Microbiol Res.* 4(24) : 2683-2688.
- Ghofar A, Ogawa S, dan Kokugan T. 2005. Production of L-lactic acid from fresh cassava roots slurried with tofu liquid waste by *Streptococcus bovis*. *J Biosci Bioeng.* 100(6) : 606-612.
- Goderska K, Nowak J, dan Czarnecki Z. 2008. Comparison of the growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharides including prebiotics. *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 7(2) : 5-20.
- Harmayani E, Endang SR, Titiek FD, Citra AS, Marwati T. 2009. Pemanfaatan kultur *Pediococcus acidilactici* F-11 penghasil bakteriosin sebagai penggumpal pada pembuatan tahu. *J Pascapanen.* 6(1) : 10-20.
- Ismawati N, Agustina LNA, dan Linda S. 2015. Whey tahu sebagai penghasil bioelektritas pada system Microbial Fuel Cell dengan *Lactobacillus plantarum*. *JSM.* 23(2):43-49.
- Hu Y, Whensui X, dan Changrong Ge. 2006. Effect of mixed starter cultures fermentation on the characteristics of silver carp sausages. *World J Microbiol Biotechnol.* 8(5) : 1-11.
- Jin Bo, P Yin, Y Ma, L Zhao. 2005. Production of lactic acid and fungal biomass by *Rhizopus oryzae* from food processing waste stream. *J Int Microbiol Biotechnol.* 32 : 678-686.
- Jonganurakkun B, Wang Q, Hua-Xu S, Tada X, Minamida K, Yasokawa D, Sugi M, Hara H, Asano K. 2008. *Pediococcus pentosaceus* NB-17 for probiotic use. *J Biosci Bioeng.* 106 (1) : 69-73.
- Kimaryo VM, Massawe GA, Olasupo NA, Holzapfel WH. 2000. The use of starter cultures in the fermentation of cassava for the production of “Kivunde” traditional Tanzanian food product. *Int J Food Microbiol.* 56 : 179-190.
- Kobayashi T, Yamazaki K, Bagenda DK, Kawai Y. 2009. Influence of medium components and growth conditions on pediocin Iz3.13 production by *Pediococcus pentosaceus* Iz3.13, isolated from Japanese traditional fermented seafood. *Bull Fish Sci Hokkaido Univ.* 60(1) : 5-12.

- Kurniasari N, Sida A, Endang SR, dan Tyas U. 2011. The growth of *Pediococcus acidilactici* F-11 in Tofu Whey. *Proceeding the 3rd International Conference of Indonesian Society for Lactic Acid Bacteria: Better Life with Lactic Acid Bacteria: Exploring Novel Function of Lactic Acid Bacteria*. ISBN: 978-979-19546. 1-7.
- Leroy F dan Vuyst LD. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry [review]. *Trends in Food Sci Technol*. 15 : 67-78.
- Liu Y, Ashok S, Seoul E, Bao J, Park S. 2013. Comparison of three *Pediococcus* strain for lactic acid production from glucose in the presence of inhibitor generated by acid hydrolysis of lignocellulose biomass. *Biotechnol Bioproc Eng*. 18 : 1192-1200.
- Manochai P, Phimolshiripol Y, dan Seesuriyachan P. 2014. Response Surface Optimization of exopolysaccharides production from sugarcane juice by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498. *Food Appl Biosci*. 13 (1): 425-438
- Marcon MJ, Vieira A, Santos MA, De Simas K, Amboni KN, dan Amante ER. 2006. The effect of fermentation on cassava starch microstructure. *J Food Proc Eng*. 29 : 362-372.
- Omemu AM, Mobolaji A, Faniran, Wuraola O. 2011. Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from two fermented maize products- *Ogi* and *Kunnu-zaki*. *Malay J Microbiol*. 7(3) : 124-128.
- Osmanaguoglu O, Beyatli Y, dan Gunduz U. 2001. Isolation and characterization of pediocin producing *Pediococcus pentosaceus* Pep1 from vacuum-packed sausages. *Turkish J Bio*. 25 : 133-143.
- Ounis W, Champagne CP, Makhlof J, Bazinet L. 2007. Utilization of tofu whey pre-treated by electromembrane process as a growth medium for *Lactobacillus plantarum* LB17. *Desalination*. 229 : 192-203.
- Palaniraj R dan Nagarajan P. 2012. Kinetic studies in production of lactic acid from waste potato starch using *Lactobacillus casei*. *J Chem Tech*. 4(4) : 1601-1614.
- Pattnaik P, Grover S, dan Batish VK. 2005. Effect of environmental factors on production lichen, a chromosomally encoded bacteriocin like compound produced by *Bifidobacterium licheniformis* 26 L-10/3RA. *Microbiol Res*. 160 : 213 – 218.
- Riadi L. 2007. *Teknologi Fermentasi*. Yogyakarta: Graha Ilmu, Pr.
- Seesuriyachan P, Kuntiya A, Hanmongujai P, Techapun C. 2011. Exopolysaccharide production by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 using coconut water as an alternative carbon source: the effect of peptone, yeast extract, and beef extract. *Songklanakarin J Sci Tech*. 33 (4) : 379-387
- Stanbury PF dan Whitaker A. 1984. *Principles of Fermentation Technology*. (ENG): Pergamon Pr.
- Thi LN, Champagne CP, Lee BH, Goulet J. 2003. Growth of *Lactobacillus paracasei* ssp. *Paracaseion* tofu whey. *Int J Food Microbiol*. 89 : 67-75.
- Tripathi M. 2014. Technology for utilization of tofu whey as growth media for production of probiotics strain and study of antioxidant activities. *OMICS Group Conferences (Accelerating Scientific Discovery)*. 2nd International Conference on Agricultural and Horticultural Sciences. Hyderabad, India: February, 03-05 2014.
- Yeh YC, Tae-Shik H, Sabliov CM, MartinY. 2007. Effects of chinese wolfberry (*Lycium Chinese* P. Mill) leaf hydrosylates on the growth of *Pediococcus acidilactici*. *Biores Tech*. 99 : 1383 – 1393.
- Yuliana N. 2008. Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolat T5 yang berasal dari tempoyak. *JTIHP*. 13(2).
- Yuwono SD dan S Hadi. 2008. Production of lactic acid from onggok and tofu liquid waste with concentrate maguro waste supplement by *Streptococcus bovis*. *AUS J Basic Appl Sci*. 2(4) : 939-942.