

VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT PADA PEMBUATAN STARTER MOKAF

Yuliasri Ramadhani Meutia, Hitler Guring Pohan, Enny Hawani Loebis, Nuni Novitasari,
Indera Wirawan

Balai Besar Industri Agro, Jl. Juanda No. 11 Bogor 16122

e-mail: cabi@bbia.go.id

Diterima: 4-2-2013

Revisi: 9-4 2013

Disetujui terbit: 22 -4- 2013

VIABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA IN THE MAKING OF STARTER MOKAF

ABSTRACT

Mocaf is fermented cassava flour that can alter the characteristics of cassava flour will be whiter and has a better gelatinization properties. Starter is needed in order to obtain a uniform quality of the fermented flour. The aims of this study is to develop the starter which can survive at a certain storage time. Research variable in this study are starter which made by centrifugation process and with the addition of trehalose (RBa), a starter made by centrifugation process and without the addition of trehalose (RBb), the starter made without centrifugation process and with the addition of trehalose (RBc), as well as the starter made without centrifugation and without the addition of trehalose (RBd) . The results show that the starter which made by centrifugation process and without addition of trehalose (RBb) has the best performance within the growth of lactic acid bacteria and their survival during the storage time. Starter RBa and RBd which made without centrifugation has an initial viability 6,05 and 6,94 log CFU/g, while starter RBb which made through centrifugation process has an initial viability 7,64 - 9,01 log CFUg as well as starter RBc which has initial viability 8,03 – 8,69 log CFU/g. Starter which store in 4 °C decreased the viability less than the starter which store on the room temperature (0,62 log cycle on the 6 month of storages).

Keywords: Starter, mocaf, shelflife, cassava, viability

ABSTRAK

Tepung mokaf adalah tepung fermentasi ubi kayu yang dapat mengubah karakteristik dasar dari tepung ubi kayu menjadi lebih putih dan memiliki sifat gelatinisasi yang lebih baik. Untuk dapat memperoleh mutu tepung mokaf yang seragam diperlukan starter mokaf. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari proses pembuatan starter mokaf yang dapat menghasilkan starter mokaf yang dapat bertahan pada waktu penyimpanan 2 minggu pada suhu ruang dan 6 bulan pada suhu pendingin. Berbagai variabel yang dibuat pada penelitian ini antara lain starter yang dibuat dengan proses sentrifugasi dan dengan penambahan trehalose (RBa), starter yang dibuat dengan sentrifugasi dan tanpa penambahan trehalose (RBb), starter yang dibuat tanpa proses sentrifugasi dan dengan penambahan trehalose (RBc), serta starter yang dibuat tanpa sentrifugasi dan tanpa penambahan trehalose (RBd). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik pada pembuatan starter mokaf adalah dengan melibatkan proses sentrifugasi dan tanpa penambahan trehalose (RBb) dalam hal jumlah bakteri asam laktat yang dapat bertahan hidup serta ketahanan simpannya. Dari hasil penelitian diperoleh starter RBa dan RBd tanpa proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal 6,05 log CFU/g sampai dengan 6,94 log CFU/g. Sedangkan starter RBb yang menggunakan proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal yang lebih tinggi yaitu 7,64 log CFU/g dan 9,01 log CFU/g dan starter RBc yang juga menggunakan proses sentrifugasi viabilitas awal 8,03 log CFU/g dan 8,69 log CFU/g. Penyimpanan starter pada suhu 4 °C mengalami penurunan viabilitas lebih kecil dibandingkan dengan starter yang disimpan pada suhu ruang sebesar 0,62 siklus log selama 6 bulan penyimpanan.

Kata kunci : Starter, mokaf, masa simpan, ubi kayu, viabilitas

PENDAHULUAN

Tepung modifikasi ubi kayu atau *Edible Modified Cassava Flour* (EMCF) adalah produk tepung dari ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) yang diproses menggunakan prinsip memodifikasi sel ubi kayu secara fermentasi. Mikroba yang tumbuh menyebabkan perubahan karakteristik dari tepung yang dihasilkan berupa naiknya viskositas, kemampuan gelasi, daya rehidrasi, dan daya larut. Mikroba juga menghasilkan asam-asam organik, terutama asam laktat yang akan terimbibisi dalam bahan, dan ketika bahan tersebut diolah akan dapat menghasilkan aroma dan citarasa khas yang dapat menutupi aroma dan citarasa ubi kayu yang cenderung tidak disukai konsumen.

Balai Besar Industri Agro (BBIA) telah mengembangkan produk starter mokaf pada tahun 2010 dan telah berhasil menghasilkan tepung mokaf yang memiliki karakteristik yang baik dan memenuhi persyaratan mutu yang terdapat pada Standar Nasional Indonesia Tepung Mokaf^[14] serta memiliki karakteristik gelatinisasi yang cukup baik^[7]. Meskipun demikian, starter mokaf yang telah dihasilkan tersebut belum pernah diaplikasikan pada skala yang lebih besar untuk membuktikan keunggulan starter tersebut (masih dalam tahap skala laboratorium).

Seiring dengan semakin berkembangnya permintaan pasar terhadap tepung mokaf, semakin banyak pula industri yang menangkap peluang tersebut. Sejalan dengan hal tersebut, permintaan industri terhadap starter

mokaf yang unggul semakin meningkat pula. Karena itu, BBIA perlu melakukan perbaikan terhadap teknologi pembuatan starter sebelumnya agar dapat memiliki karakteristik yang lebih baik lagi dan dapat bersifat kompetitif dalam hal masa simpan starter atau viabilitas yang lebih baik, aplikasi yang lebih mudah, serta komposisi yang lebih baik.

Metode produksi starter untuk keperluan produksi secara tradisional biasanya dilakukan dengan mentransfer dari kultur stok baik dalam bentuk cair maupun kering beku, atau bekuan yang disimpan dalam nitrogen cair (-196°C) dan dibuat kultur induk kira-kira sebanyak 100 ml untuk ditransfer tiap hari ke dalam 3 botol atau lebih, dipilih satu botol terbaik untuk kemudian diinokulasikan sebanyak 1% ke dalam media starter yang lebih besar jumlahnya atau *intermediate*, untuk kemudian diinokulasikan ke dalam media fermentasi. Meskipun perbanyak starter membutuhkan banyak waktu, memerlukan keahlian operator dan rawan kontaminasi, tetapi cara ini banyak digunakan oleh industri^[15].

Proses modifikasi tepung ubi kayu menjadi mokaf dilakukan melalui proses fermentasi. Mikroba yang tumbuh menyebabkan perubahan karakteristik dari tepung yang dihasilkan berupa naiknya viskositas, kemampuan gelasi, daya rehidrasi, dan daya larut. Mikroba juga menghasilkan asam-asam organik, terutama asam laktat yang akan terimbibisi dalam bahan, dan ketika bahan tersebut diolah akan dapat menghasilkan aroma dan citarasa khas yang dapat menutupi aroma dan citarasa

ubi kayu yang cenderung tidak menyenangkan konsumen^[13].

^[11] melaporkan bahwa produk ubi kayu "fufu" yang difermentasi mempunyai karakteristik pembentukan pasta yang lebih baik daripada yang tidak difermentasi, selain itu proses fermentasi dapat mereduksi bau yang tidak diharapkan pada tepung ubi kayu.

Dalam proses modifikasi ubi kayu menjadi tepung mokaf digunakan starter mokaf untuk mempercepat berlangsungnya proses fermentasi. Teknologi proses pembuatan starter mocaf sudah dilaporkan oleh^[7], namun proses pembuatan starter masih perlu dilakukan penyempurnaan dikarenakan masa simpan starter yang belum terlalu baik dan diperlukan standar proses pada pembuatan starter agar diperoleh starter mocaf yang dapat menghasilkan mutu produk mokaf yang seragam.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi proses pembuatan starter mokaf dan umur simpan starter mokaf.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan baku dan bahan penolong yang digunakan pada penelitian ini adalah ubi kayu diperoleh dari pedagang di Pasar Bogor sedang kultur bakteri asam laktat (BAL) hasil isolasi. Bahan kimia dan media meliputi media *deMann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), akuades, CaCO₃, NaCl, alkohol teknis, spiritus, bacto agar, CaCl₂, *trehalose*, pepton, *yeast extract*, Potasium dihidrogen pospat, alginat, *beef*

gelatin, *trehalose*, tepung beras, kain saring, aluminium foil yang diperoleh dari toko kimia di Bogor.

Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave* dengan tekanan 1,2 atm, incubator merek Hereaus, pengering starter mokaf vakuum, *sentrifuse*, vortex, pipet mikro, erlenmeyer, bunsen, tabung reaksi, cawan petri, dan peralatan gelas lainnya.

Metode

Tahapan penelitian ini terdiri dari tahap persiapan kultur, pembuatan starter, dan pengujian masa simpan starter.

Persiapan Kultur (Modifikasi Koch, 1994)

Persiapan kultur dilakukan dengan cara sebagai berikut, kultur BAL yang diliofilisasi disebarkan dengan ditumbuhkan pada 5 ml media MRSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Dari kultur yang telah disebarkan tersebut sebagian dibuat menjadi kultur stok dan sebagian menjadi kultur kerja. Untuk membuat kultur stok, sebanyak 1 ose kultur yang tumbuh pada MRSB digoreskan pada agar miring yang berisi MRSA dan CaCO₃ kemudian kultur yang telah digoreskan tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam – 48 jam. Kultur stok yang telah ditumbuhi BAL disimpan pada pendingin. Untuk membuat kultur kerja, sebanyak 1-2 ose kultur ditumbuhkan pada 250 ml MRSB kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Pembuatan Starter Mocaf (Modifikasi^[7])

Pembuatan starter diawali dengan penumbuhan kultur BAL hingga menjadi kultur kerja, dari kultur tersebut dilakukan imobilisasi sel, penambahan bahan pengisi, dan pengeringan. Sebagian starter dari berbagai perlakuan disimpan pada suhu ruang (35 – 37 °C) dan sebagian starter disimpan pada suhu pendingin (4 °C). Starter mokaf dibuat

melalui beberapa perlakuan, variabel yang digunakan adalah pemakaian *sentrifuse* dan penggunaan trehalose pada pembuatan starter. Trehalose yang digunakan adalah 10% dari total bahan pengisi yang digunakan, sedangkan kecepatan sentrifugasi yang digunakan adalah 3500 RPM. Adapun variabel pada pembuatan starter dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Variabel Perlakuan pada Pembuatan Starter Mokaf

No.	Kode Perlakuan	Variabel perlakuan ¹⁾			
		Penggunaan Trehalose ²⁾		Penggunaan Sentrifugasi 3500 RPM	
		Ya	Tidak	Ya	Tidak
1.	RBa		√		√
2.	RBb		√	√	
3.	RBc	√		√	
4.	RBd	√			√

Catatan: ¹⁾Dilakukan 2 kali ulangan pada pembuatan starter

²⁾Trehalose dengan dosis yang sama (10%)

Pengujian Umur Simpan dan Viabilitas Starter

Dari 4 perlakuan starter yang dibuat masing-masing dibagi lagi menjadi 2 perlakuan yaitu yang disimpan pada suhu ruang dan disimpan pada pendingin bersuhu 4 °C. Daya tahan simpan diamati berdasarkan penampakan fisik/ visual starter berupa bau dan warna, serta pengamatan viabilitas starter pada minggu ke-0, 2, 4, 6, dan 8 penyimpanan atau sampai starter tersebut berubah penampakannya secara visual.

Pengamatan viabilitas dilakukan dengan metode *plating* pada media MRSA. Perlakuan penyimpanan starter pada suhu ruang dan suhu pendingin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perlakuan Penyimpanan Starter

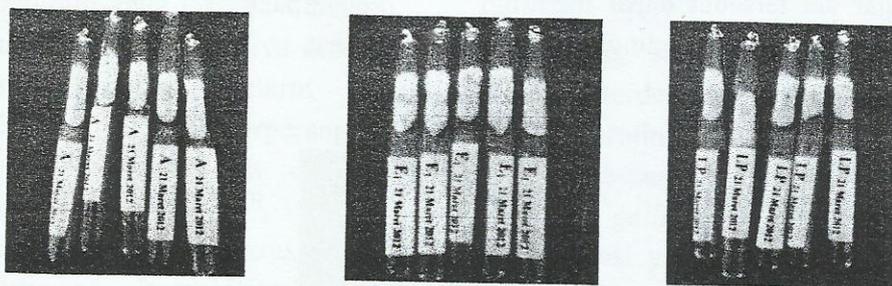
No.	Kode Perlakuan pada Penyimpanan	
	Suhu ruang	Suhu pendingin
1.	RBa ₁	RBa ₂
2.	RBb ₁	RBb ₂
3.	RBc ₁	RBc ₂
4.	RBd ₁	RBd ₂

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Kultur

Kultur BAL yang digunakan pada pembuatan starter merupakan kultur campuran yang berasal dari penelitian sebelumnya yaitu *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, dan *Lactobacillus plantarum*. Pemeliharaan kultur selain dijadikan kultur stok untuk penyimpanan sekitar 1 sampai 2 bulan juga dilakukan liofilisasi untuk lebih memperpanjang penyimpanan kultur tersebut. Liofilisasi merupakan suatu teknik pengawetan kultur dengan menjadikan bentuk kultur menjadi kultur kering beku, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama dibandingkan dengan kultur biasa. Kultur BAL yang berada pada fase stasioner pertumbuhannya dikondisikan dengan

menggunakan bahan yang melindungi kultur dari kondisi pembekuan (*cryoprotectant*) melalui mekanisme penurunan aw perubahan tekanan osmosis media [11]. Teknik pengeringan beku adalah metode umum yang digunakan dalam pengawetan dan penyimpanan kultur mikroba untuk jangka panjang sebagai kultur stok dan juga kultur starter pada industri pangan. Pemilihan karier yang tepat merupakan hal penting yang menentukan *survival* kultur BAL selama dan setelah proses pengeringan beku meskipun keberhasilan proses liofilisasi juga dipengaruhi oleh faktor lainnya yaitu fase pertumbuhan bakteri, lama proses pengeringan, proses rehidrasi, media pembawa (karier), serta bahan *cryoprotectant* yang digunakan [16]. Kultur yang diliofilisasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kultur BAL Liofilisasi. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, dan *Lactobacillus plantarum* (dari kiri ke kanan)

Pembuatan Starter Mokaf

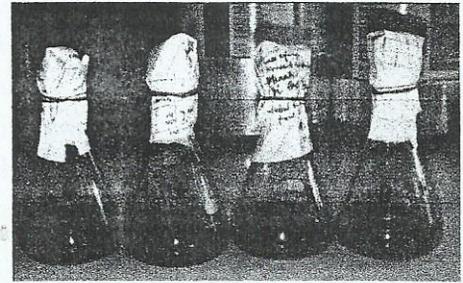
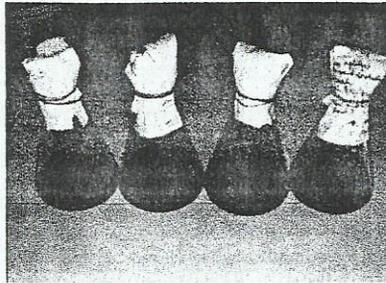
Pembuatan starter dibagi menjadi dua garis besar yaitu melibatkan proses sentrifugasi atau tidak, dan menggunakan trehalose sebagai bahan pengisi atau tidak. Kedua variabel tersebut digunakan untuk melihat apakah kedua proses

tersebut diperlukan pada pembuatan starter mokaf. Apabila tahapan proses tersebut memang memberikan pengaruh positif terhadap starter dalam hal viabilitas BAL maka proses tersebut akan dijadikan standar proses pada pembuatan starter tersebut, sebaliknya bila tahapan

tersebut kurang memberikan pengaruh positif maka tahapan tersebut dapat dihilangkan pada proses pembuatan starter, mengingat dibutuhkan tambahan biaya pada proses tersebut yang dapat

mempengaruhi kelayakan dari starter mokaf itu sendiri.

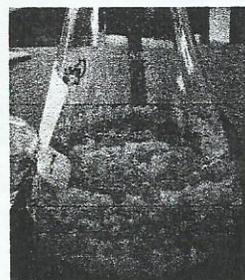
Kultur kerja BAL dibuat dengan menggunakan media MRSB dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Media MRSB Sebelum Ditumbuhi BAL (kiri) dan MRSB yang Telah Ditumbuhi BAL yang Merupakan Kultur Kerja BAL(kanan)

Selanjutnya kultur kerja tersebut diimmobilisasi dengan menggunakan media pembawa atau karier berupa alginat dan gelatin dengan perbandingan 1 : 2. Proses immobilisasi merupakan suatu tahapan proses *entrainment* /pemerangkapan sel bakteri agar sel tersebut dapat memiliki viabilitas lebih baik dibandingkan tanpa

immobilisasi. Pada penelitian ini tahapan sentrifugasi dilakukan sebelum sel diimmobilisasi dengan media pembawa tersebut. Perlakuan pembuatan starter mokaf yang melibatkan proses sentrifugasi adalah RBb dan RBc. Penampakan sel yang diimmobilisasi dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. Sel Bakteri Terimmobilisasi

Produk-produk yang memanfaatkan mikroba dapat diaplikasikan dengan menggunakan sel bebas atau sel terimmobilisasi. Proses immobilisasi sel

memiliki beberapa keuntungan dibandingkan teknik suspensi kultur biasa seperti pengeliminasian tahap pemurnian dan ekstraksi enzim, serta aktivitas enzim

yang lebih tinggi setelah proses imobilisasi, resistensi terhadap perubahan lingkungan yang lebih baik [4].

Teknik mikroenkapsulasi telah dimanfaatkan secara luas untuk melindungi sel atau jaringan dari mikroorganisme terhadap pengaruh lingkungan dan degradasi fisiologis [6]. Dari beberapa teknik imobilisasi sel yang ada, teknik pemerangkapan (*entrapment*) dengan Ca Alginat adalah yang biasa digunakan untuk mengimobilisasi sel BAL [2]. Alginat merupakan heteropolisakarida linier yang diekstrak dari berbagai tipe alga, yang mempunyai dua unit struktur asam D-mannuronat dan asam L-guluronat. Ca Alginat digunakan pada enkapsulasi sel BAL dengan kisaran konsentrasi 0,5 – 4% [6].

Alginat mempunyai beberapa keuntungan antara lain mudah membentuk matriks gel pada sel bakteri, bersifat non-toksik terhadap sel yang diimobilisasi, murah, dapat dengan mudah dipreparasi, penangannya mudah, dapat dengan mudah melarut dan membebaskan sel-sel yang terperangkap [8]. Selain itu alginat telah diterima sebagai aditif pada makanan [10].

Studi yang dilakukan [19] menunjukkan bahwa proses immobilisasi sel *Gongronella* sp. dapat meningkatkan produksi chitosanase. Chitosanase maksimum dapat diperoleh dengan cara mengimobilisasi sel dengan menggunakan bahan 2% sodium alginat, 0.1 M Calcium clorida, dengan ukuran *beads* 2,7 mm pada pH awal 5,5 dan suhu 30 °C. Alginat juga memiliki beberapa kekurangan yaitu pada kondisi asam akan

mengalami keretakan dan kehilangan stabilitas mekaniknya pada kondisi lingkungan yang mengandung asam laktat [8]. Selain itu karena gel alginat terbentuk dengan adanya ion kalsium, integritasnya terdeteriorisasi pada saat diaplikasikan dengan ion monovalen atau *chelating agent* yang menyerap kalsium seperti fosfat, laktat, dan sitrat [8]. Kekurangan lainnya adalah sulitnya diaplikasikan pada skala industri karena kesulitannya untuk di-*scale up* terkait dengan keretakan dan pembentukan pori-pori pada permukaan gel, kapsulnya dapat mendifusi kelembaban dan cairan lainnya dengan cepat sehingga menurunkan sifat ketahanannya terhadap faktor lingkungan [3]. Kekurangan-kekurangan tersebut dapat ditutupi dengan mengkombinasikan alginat dengan komponen polimer lainnya, melapisi (*coating*) kapsulnya dengan komponen lain, serta modifikasi struktur alginat dengan menggunakan berbagai aditif [6].

Gelatin, suatu turunan protein dari kolagen terdenaturasi yang mengandung hidrosiprolin, prolin, dan glisin dalam jumlah besar, yang dapat digunakan sebagai *gelling agent* untuk proses enkapsulasi yang bersifat *reversible* bila diproses secara termal. Karena sifatnya yang amfoterik, gelatin dinyatakan sebagai kandidat yang baik untuk diaplikasikan bersama-sama polisakarida anionik seperti alginat [6].

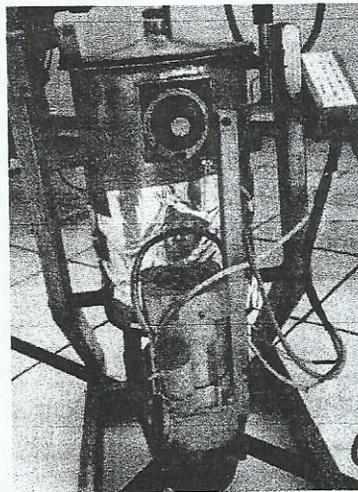
Selain kombinasi alginat dan gelatin, terdapat kandidat karier untuk mengimobilisasi sel yang cukup baik untuk dapat diaplikasikan untuk proses immobilisasi [9], telah mengaplikasikan

selulosa asal bakteri (*bacterial cellulose* BC) hasil metabolit dari *Acetobacter xylinum* sebagai karier dalam proses immobilisasi sel *Saccharomyces cerevisiae* sebagai ragi pada pembuatan wine dimana aplikasi BC ini dilakukan melalui metode adsorpsi – inkubasi.

Sel yang telah terimobilisasi kemudian ditambahkan bahan pengisi dengan perbandingan 1 : 3. Pemakaian trehalose sebagai tambahan bahan pengisi dijadikan sebagai variabel perlakuan pada penelitian ini untuk memastikan apakah penambahan trehalose cukup signifikan memberikan pengaruh terhadap viabilitas starter. Hal ini sekaligus untuk mengkonfirmasi pernyataan ^[17] yang menggunakan trehalose sebagai bahan aditif pada proses mikroenkapsulasi sel

BAL dimana dinyatakan trehalose sebagai sumber karbohidrat pada kultur media dapat menurunkan produksi asam dan mempertahankan sel BAL agar tidak berploriferasi.

Sel yang telah ditambahkan bahan pengisi baik dengan penambahan trehalose (RBc dan RBd) atau tanpa penambahan trehalose (RBa dan RBb) dikeringkan dengan alat pengering yang bertekanan vakum dengan suhu pengeringan 40 °C. Pada penelitian ini, starter yang menggunakan trehalose membutuhkan waktu pengeringan yang lebih lama dibandingkan dengan starter yang tidak menggunakan trehalose. Alat pengering starter mokaf dapat dilihat pada Gambar 4. berikut.



Gambar 4. Pengering Starter Mokaf yang Menggunakan Vakum

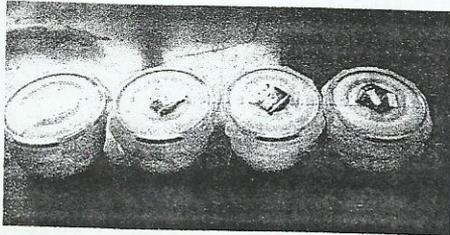
Starter mokaf dengan 4 variabel perlakuan yaitu RBa (starter tanpa trehalose dan tanpa sentrifugasi), RBb (starter tanpa trehalose dan dengan sentrifugasi 3500 RPM), RBc (Starter dengan trehalose 10% dan dengan

sentrifugasi 3500 RPM), serta RBd (starter dengan trehalose 10% dan tanpa sentrifugasi) memiliki bentuk yang kering dan tidak berbau. Starter disimpan di tempat tertutup rapat untuk kemudian disimpan pada suhu ruang (35 – 37 °C)

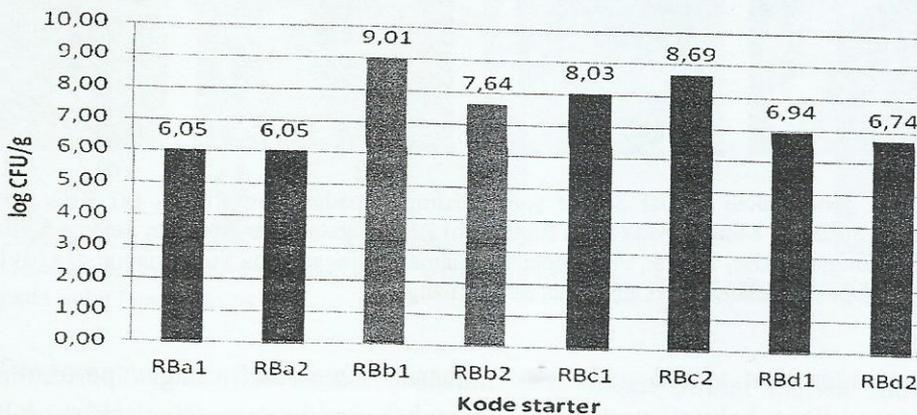
dan suhu pendingin (4 °C) (Gambar 5). Starter yang baru dibuat dihitung jumlah BAL yang hidup sebagai starter minggu ke-0.

Pengujian Umur Simpan dan Viabilitas Starter

Pengamatan viabilitas starter pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Gambar 6. berikut



Gambar 5. Starter Mokaf yang Disimpan pada Suhu Kamar (30 °C) (kiri) dan pada Suhu Pendingin (4 °C) (kanan)



Gambar 6. Kurva Viabilitas Awal Starter Mokaf dengan 4 Perlakuan baik yang Disimpan pada Suhu ruang (RBa₁, Rbb₁, RBc₁, dan RBd₁) Maupun yang Disimpan pada Suhu Pendingin (RBa₂, Rbb₂, RBc₂, dan RBd₂) Minggu ke-0

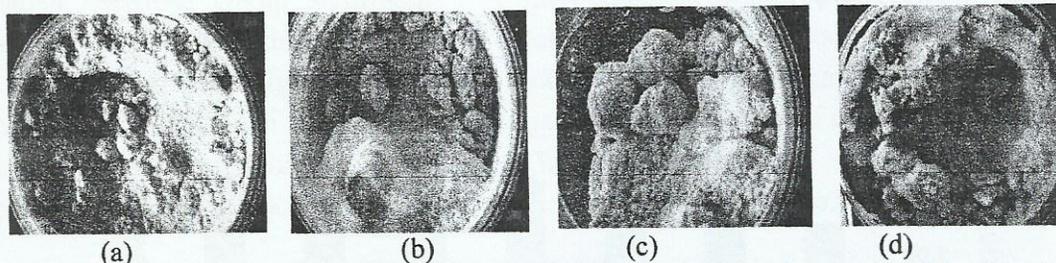
Berdasarkan viabilitas awal starter mokaf, dapat dilihat bahwa Rbb dan RBc memiliki viabilitas awal yang lebih baik dibandingkan dengan RBa dan RBd. Hal ini dapat menunjukkan bahwa proses sentrifugasi pada pembuatan starter mokaf diperlukan untuk mendapatkan starter dengan viabilitas awal yang baik. Berdasarkan Gambar 6. dapat dilihat

bahwa starter RBa dan RBd yang tidak melibatkan proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal 6,05 log CFU/g sampai dengan 6,94 log CFU/g. Sedangkan starter Rbb yang menggunakan proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal yang lebih tinggi yaitu 7,64 log CFU/g dan 9,01 log CFU/g. Demikian juga

starter RBC yang juga menggunakan proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal 8,03 log CFU/g dan 8,69 log CFU/g. Proses sentrifugasi dengan kecepatan 3500 RPM dapat memisahkan kultur dengan cairan pertumbuhannya dengan sempurna, sedangkan bila proses pembuatan starter dibuat tanpa sentrifugasi maka masih ada media pertumbuhan yang tersisa pada saat pemanenan kultur, selain adanya kultur yang lolos saringan sehingga hal ini dapat menyebabkan viabilitas awal yang lebih

rendah. Dengan demikian, proses sentrifugasi dengan kecepatan 3500 RPM merupakan tahapan proses yang penting pada pembuatan starter mokaf sehingga perlu dimasukkan pada standar proses pembuatan starter mokaf ini.

Viabilitas starter pada suhu ruang dan suhu pendingin diamati setiap 2 minggu sampai dengan penampakan starter secara visual berubah (bergumpal, timbul bau, dan atau ditumbuhi kapang). Pengamatan visual starter yang disimpan pada suhu ruang dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Penampakan Visual Starter yang Disimpan pada Suhu Ruang. (a) RBA₁ Setelah Penyimpanan Selama 4 Minggu pada Suhu Ruang; (b) RBB₁ Setelah Penyimpanan Selama 6 Minggu pada Suhu Ruang; (c) RBC₁ Setelah Penyimpanan Selama 6 Minggu pada Suhu Ruang; dan (d) RBD₁ Setelah Penyimpanan Selama 2 Minggu pada Suhu Ruang.

Berdasarkan pengamatan visual pada Gambar 7. dapat dilihat bahwa starter mokaf yang melibatkan proses sentrifugasi memiliki ketahanan pada suhu ruang lebih lama dibandingkan dengan pada starter mokaf tanpa perlakuan sentrifugasi. Hal ini semakin mempertegas bahwa proses sentrifugasi merupakan suatu tahapan proses yang penting pada pembuatan starter. Starter yang dibuat tanpa proses sentrifugasi mengalami perubahan bau yang menunjukkan adanya fermentasi ragi yang terjadi. Hal ini dapat disebabkan oleh kandungan gula pada media MRSB yang masih tersisa yang menciptakan

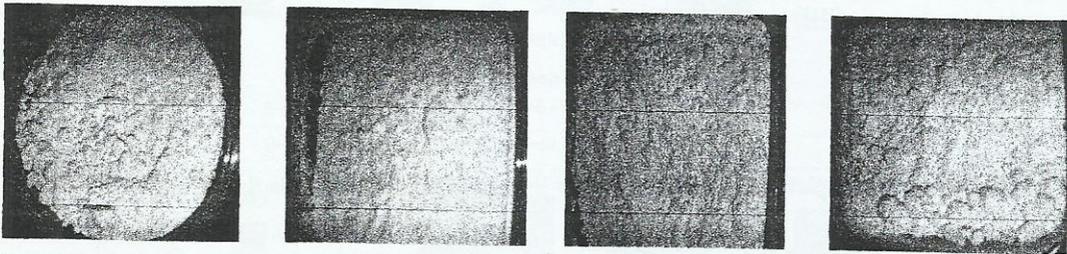
suasana kondusif bagi pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* sehingga BAL dalam kondisi terimobilisasi (tak teraktivasi) kalah berkompetisi dengan khamir tersebut. Kondisi starter yang menggunakan trehalose juga mengalami peningkatan sifat higroskopisnya, dalam suhu ruang akan menjadikan starter lebih mudah bergumpal dan ditumbuhi oleh kapang.

Pengamatan visual starter mokaf yang disimpan pada suhu pendingin (4 °C) setelah 4 minggu penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 8. dan starter mokaf yang disimpan pada suhu pendingin

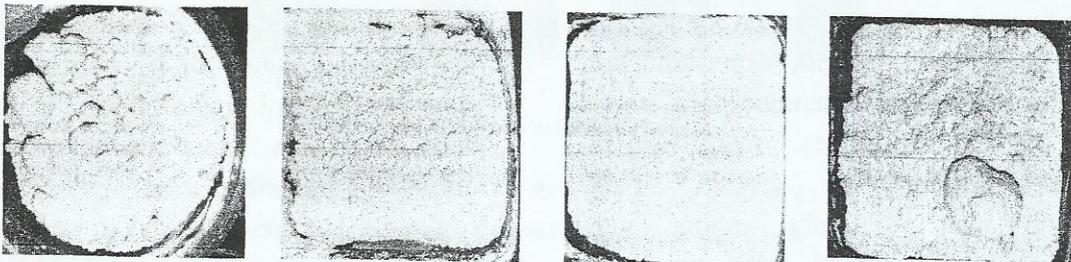
(4 °C) setelah 5 bulan dapat dilihat pada Gambar 9.

Berdasarkan Gambar 8. dapat dilihat bahwa selama 4 minggu penyimpanan pada suhu pendingin starter belum

mengalami perubahan secara visual baik warna, bau, maupun penampakan secara keseluruhan starter, dengan kata lain kondisi starter masih sama dengan ketika starter ini pertama kali dibuat.



Gambar 8. Starter Mokaf RBA₂, RBb₂, RBC₂, dan RBD₂ (dari kiri ke kanan) Setelah 4 Minggu Penyimpanan pada Suhu Pendingin (4 °C)

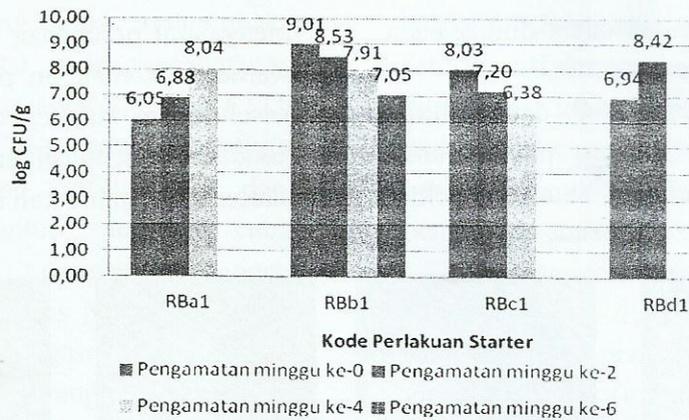


Gambar 9. Starter Mokaf RBA₂, RBb₂, RBC₂, dan RBD₂ (dari kiri ke kanan) Setelah 6 Bulan Penyimpanan pada Suhu Pendingin (4 °C)

Pengamatan starter mokaf secara visual setelah 6 bulan penyimpanan seperti pada Gambar 9. menunjukkan bahwa semua perlakuan starter yang disimpan pada suhu pendingin belum menunjukkan adanya perubahan, kecuali pada RBA₂ yaitu starter yang dibuat tanpa proses sentrifugasi dan tanpa trehalose. Perubahan yang terjadi adalah bentuknya yang mulai bergumpal dan mulai ditumbuhi kapang pada permukaannya. Hal ini diduga akibat terjadi kontaminasi silang pada saat penyimpanan starter. Berdasarkan penampakan visual selama 6 bulan penyimpanan pada suhu 4 °C

dapat dilihat bahwa starter mokaf yang melalui tahapan sentrifugasi bersifat lebih stabil.

Viabilitas starter juga diamati setiap 2 minggu selama penyimpanan melalui *plating* pada media MRSA, baik pada starter yang disimpan pada suhu ruang maupun starter yang disimpan pada suhu pendingin. Pengamatan dilakukan sampai dengan starter berubah bentuk (ditumbuhi kapang dan muncul bau). Pengamatan viabilitas starter selama penyimpanan pada suhu ruang dapat dilihat pada Gambar 10. berikut.



Gambar 10. Pengamatan Viabilitas Starter Selama Penyimpanan pada Suhu Ruang (30 °C)

Starter RBa dan RBd mengalami penambahan jumlah BAL selama penyimpanan, hal ini dikarenakan proses pembuatan starter yang tanpa sentrifugasi mengakibatkan media pertumbuhan masih tersisa dan tercampur pada starter dan menandakan proses immobilisasi sel tidak berlangsung dengan baik. Penyimpanan di suhu ruang juga menyebabkan sel BAL yang tercampur media tersebut masih dapat aktif meskipun tidak dalam kondisi optimumnya.

Starter RBb mengalami penurunan viabilitas yang paling kecil. Hingga penyimpanan selama 6 minggu, starter RBb hanya mengalami penurunan sebesar 1,96 siklus log. Bila dibandingkan dengan RBc yang menggunakan trehalose ternyata mengalami penurunan viabilitas yang lebih besar daripada RBb yaitu sebesar 1,65 siklus log dalam 4 minggu. Sementara pada RBb dalam 4 minggu penyimpanan penurunan viabilitas sebesar 1,1 siklus log.

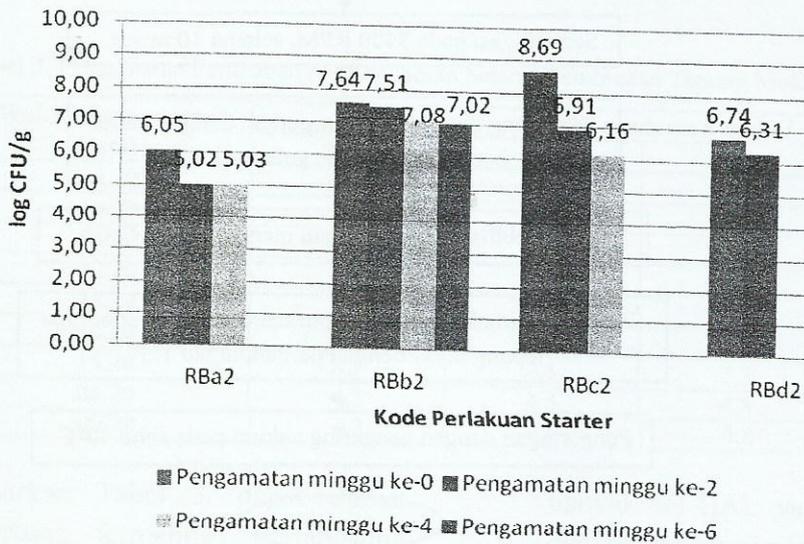
Perlakuan penyimpanan starter pada suhu ruang dimaksudkan sebagai simulasi bila starter dibutuhkan untuk dikirimkan

ke luar daerah dalam kondisi tanpa pendingin (dikirim pada kondisi suhu ruang). Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa pada kondisi penyimpanan suhu ruang, starter RBb yang mengalami penurunan viabilitas yang kecil dan dapat bertahan tanpa terkontaminasi selama masa penyimpanan 6 minggu. Hal ini dikarenakan perlakuan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 RPM pada starter RBb dapat benar-benar memisahkan cairan media dengan sel bakteri yang dipanen. Starter dengan perlakuan RBc meskipun melalui proses sentrifugasi namun mengalami penurunan viabilitas yang lebih besar diakibatkan oleh penggunaan trehalose yang menyebabkan starter yang dihasilkan lebih higroskopis sehingga menjadikannya lebih mudah untuk mengalami peningkatan kadar air dan mudah terkontaminasi dengan mikroba lain, dalam hal ini kapang. [18] memaparkan bahwa selama proses pengeringan, *survival* mikroorganisme dapat ditingkatkan dengan penambahan media protektif. Disakarida trehalose berperan sebagai *protecting agent* yang

kritikal pada membran untuk sel khamir selama kondisi stres dari lingkungan seperti perlakuan panas, pengeringan, pembekuan, dan *confers* viabilitas sel yang lebih tinggi dengan adanya etanol konsentrasi tinggi. Namun peran trehalose pada pembuatan starter dalam bentuk

bubuk pada penelitian ini tidak terlalu direkomendasikan karena sifatnya yang menjadikan starter bersifat lebih higroskopis.

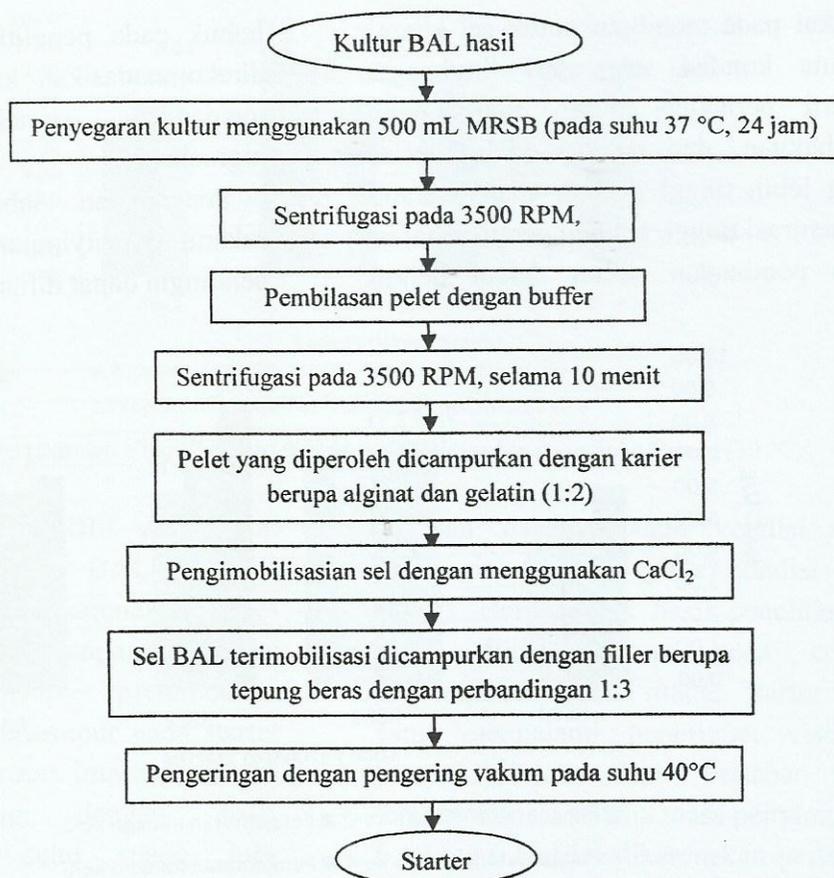
Pengamatan viabilitas starter mokaf selama penyimpanan pada suhu pendingin dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Pengamatan Viabilitas Starter Selama Penyimpanan pada Suhu Pendingin

Starter yang disimpan pada suhu 4 °C mengalami penurunan viabilitas lebih kecil dibandingkan dengan starter yang disimpan pada suhu ruang. Berdasarkan Gambar 11. dapat dilihat bahwa starter RBb yang mengalami penurunan viabilitas paling kecil dibandingkan dengan starter lainnya, yaitu hanya mengalami penurunan sebesar 0,62 siklus log selama 6 bulan penyimpanan. Starter RBc yang juga menggunakan proses sentrifugasi pada pembuatannya mengalami penurunan viabilitas cukup besar pada minggu ke-2 penyimpanan. Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa proses penambahan trehalose tidak memberikan pengaruh positif terhadap

viabilitas sel, dimana hal ini berlawanan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh ^[17] yang melaporkan bahwa trehalose dapat menurunkan produksi asam dan mempertahankan sel BAL agar tidak berploriferasi, selain itu dilaporkan juga bahwa trehalose memberikan pengaruh positif pada ketahanan sel BAL terhadap kondisi stress dan lingkungan seperti pengasaman dan pengeringan. Hal ini semakin mempertegas bahwa starter yang dibuat melalui proses sentrifugasi dan tanpa penambahan trehalose merupakan starter dengan perlakuan terbaik. Dengan demikian proses pembuatan starter mokaf yang direkomendasikan dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Proses Pembuatan Starter Mokaf

Berdasarkan pengamatan selama proses pembuatan starter mokaf maupun penyimpanannya terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan pembuatan starter mokaf diantaranya adalah hygiene dan sanitasi personel maupun peralatan pada saat pembuatan starter. Selain itu perlu dihindari proses kondensasi selama proses pengeringan starter dilakukan karena air sisa kondensasi selama proses pengeringan dapat meningkatkan kadar air dari starter yang dihasilkan sehingga dapat menyebabkan starter menjadi lebih mudah terkontaminasi selama masa penyimpanan. [1] telah melakukan kajian keamanan mikrobiologi pangan selama

proses pembuatan produk tepung fermentasi ubi kayu di Nigeria dimana dilaporkan bahwa mutu produk fermentasi ubi kayu sangat dipengaruhi oleh kondisi sanitasi di tempat produksi, peralatan, air yang digunakan, serta kondisi sanitasi pada saat produk didistribusikan. Demikian juga pada proses pembuatan starter ini, kondisi sanitasi ruangan, peralatan, dan wadah penyimpan merupakan faktor penting yang mempengaruhi keberhasilan dan ketahanan pada penyimpanan starter.

Proses imobilisasi sel pada penelitian ini juga dilakukan secara manual sehingga selain membutuhkan waktu yang lebih lama juga sifatnya

mempunyai tenaga kerja yang khusus (*labour consuming*) sehingga dibutuhkan suatu alat bantu yang dapat memperkecil peluang kontaminasi dari lingkungan produksi maupun personel yang mudah untuk diaplikasikan dan menjadikan proses imobilisasi dapat berlangsung lebih cepat.

Aplikasi Starter Mokaf pada Pembuatan Tepung Mokaf

Starter RBa, RBb, RBc, dan RBd dilakukan implementasi pada pembuatan tepung mokaf. Selama pembuatan tepung mokaf dilakukan pengamatan perubahan pH cairan seperti yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengamatan Perubahan pH Rendaman Selama Pembuatan Tepung Mokaf

Waktu pengamatan (jam)	pH rendaman mokaf			
	RBa	RBb	RBc	RBd
09.20	7,7	7,8	7,7	7,8
10.20	7,6	7,8	7,6	7,7
11.20	7,6	7,7	7,5	7,5
12.20	7,4	7,6	7,5	7,5
13.20	4,5	4,7	7,4	7,4
14.20	4,4	4,7	7,4	7,4
15.20	4,3	4,5	7,3	7,3
08.20	4,3	4,5	4,8	4,5
09.20	4,3	4,4	4,8	4,5

Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat bahwa proses fermentasi berlangsung setelah perendaman selama 4 jam yang ditandai dengan turunnya pH untuk starter RBa, dan RBb dari pH 7,8 turun menjadi 4,5 – 4,7, sedangkan untuk starter RBc dan RBd dari pH 7,8 menjadi pH 7,4. Apabila proses fermentasi dilanjutkan untuk menurunkan pH menjadi 4,5 – 4,8 dibutuhkan waktu selama 23 jam untuk perlakuan RBc dan RBd. Penurunan pH menandakan telah terbentuknya asam laktat hasil metabolit sekunder dari BAL yang menandakan starter telah aktif.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Proses sentrifugasi 3500 RPM pada pembuatan starter merupakan hal yang cukup penting dalam proses pembuatan starter ini, karena lebih

banyak sel BAL yang dapat dipanen dan proses pemisahan antara sel dan media dapat berlangsung lebih baik. Penambahan trehalose pada pembuatan starter ini juga bukan merupakan hal yang signifikan, sehingga proses pembuatan starter yang terpilih pada penelitian ini adalah starter yang dibuat melalui proses sentrifugasi 3500 RPM dan tanpa penambahan trehalose 10%.

2. Proses pembuatan starter mokaf pada perlakuan RBb (menggunakan proses sentrifugasi 3500 RPM dan tanpa penambahan trehalose) dan RBc (menggunakan proses sentrifugasi 3500 RPM dan dengan penambahan trehalose 10%) memiliki viabilitas awal yang lebih baik karena menggunakan proses sentrifugasi

dibandingkan dengan RBa (tanpa sentrifugasi 3500 RPM dan tanpa penambahan trehalose 10%) dan RBd (tanpa proses sentrifugasi dan dengan penambahan trehalose 10%)..

3. Starter RBa dan RBd tanpa proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal 6,05 log CFU/g sampai dengan 6,94 log CFU/g. Sedangkan starter RBb yang menggunakan proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal yang lebih tinggi yaitu 7,64 log CFU/g dan 9,01 log CFU/g. Demikian juga starter RBc yang juga menggunakan proses sentrifugasi pada pembuatannya memiliki viabilitas awal 8,03 log CFU/g dan 8,69 log CFU/g.
4. Starter yang disimpan pada suhu 4 °C mengalami penurunan viabilitas lebih kecil dibandingkan dengan starter yang disimpan pada suhu ruang (30 °C) yaitu hanya mengalami penurunan sebesar 0,62 siklus log selama 6 bulan penyimpanan.
5. Starter dengan perlakuan RBb merupakan starter yang terbaik dari segi viabilitas.
6. Starter dapat berkerja dengan baik yang ditunjukkan terjadi penurunan pH cairan selama proses fermentasi dari pH 7,7 – 4,3

SARAN

Faktor sanitasi lingkungan kerja dan peralatan merupakan faktor penentu dalam hal ketahanan starter selama masa penyimpanan. Karena itu perlu dikurangi adanya kontak fisik dengan personel selama proses pembuatan starter tersebut

sehingga diperlukan suatu alat bantu terutama dalam proses immobilisasi sel BAL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada BBIA yang telah membiayai penelitian ini pada tahun 2012 melalui DIPA BBIA 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Adebayo-Oyetero, A.O., Oyewole, O.B., Obadina, A.O., Omemu, M.A. 2013. "Microbiological Safety Assesment of Fermented Cassava Flour "Lafun" Available in Ogun and Oyo States of Nigeria." *International Journal of Food Science* article 854324.
- [2] Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris, dan M. Jones. 2004. "An Improved Method of Microencapsulation and Its Evaluation to Protect *Lactobacillus* spp. In Simulated Gastric Conditions." *Journal Microbiological Methods* 56: 27 – 35.
- [3] Gouin, S.2004."Microencapsulation-Industrial Appraisal of Existing Technologies and Trend." *Trends Food Science and Technology* 15: 330 – 347.
- [4] Hemachander, C. N. Bose, R. Puvanakrishnan. 2001. "Whole Cell Immobilization of *Ratlstonia picketii* for Lipase Production." *Process Biochemistry* 36: 629-633.
- [5] Koch, A.L. 1994. Growth Measurement. Di dalam *Methods for General and Molecular Bacteriology* Chapter 11. *American Society for Microbiology*. Washington DC.
- [6] Krasaekoopt, W., B. Bhandari, H. Deeth. 2003. "Evaluation of Encapsulation Techniques of

- [7] Probiotics for Yoghurt." *International Dairy Journal* 13: 3 – 13.
- [7] Loebis, E.H., Y.R. Meutia, S.D. Sirait, Solechan, I.N. Ridwan, I. Wirawan. 2010. Pengembangan Pembuatan Starter untuk Industri *Modified Cassava Flour*. Laporan Litbang DIPA 2010. Balai Besar Industri Agro.
- [8] Mortazavian, A., S.H. Razavi, M.R. Ehsani, S. Sohrabvandi. 2007. "Principles and Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganisms. Review Article." *Iranian Journal of Biotechnology* 5(1): 1-18.
- [9] Nguyen, D.N., N.M.N. Ton, V.V.M. Le. 2009. "Optimization of *Saccharomyces cerevisiae* Immobilization in Bacterial-Cellulose by 'Adsorption – Incubation' Method." *International Food Research Journal* 16: 59 – 64.
- [10] Prevost, H., dan C. Divies. 1992. "Cream Fermentation by a Mixed Culture of Lactococci Entrapped in Two-Layer Calcium Alginate Gel Beads." *Biotechnology Letter* 14: 583 – 588
- [11] Sobowale, A. O., Olurin, T. O. dan Oyewole, O. B. 2007. "Effect of Lactic Acid Bacteria Starter Culture. Fermentation of Cassava on Chemical and Sensory Characteristics of Fufu Flour." *African Journal of Biotechnology* 6: 1954 – 1958.
- [12] Stoyanove. L.G., dan Z.A. Arkad'eva. 2000. "Comparative Investigation of Different Methods of Storage of Lactic Acid Bacteria." *Microbiology* 69: 98 – 104.
- [13] Subagio, A; Siti, W.W; Witono, Y dan Fahmi, F (2008). *Runas Diversifikasi Pangan Pokok. Prosedur Operasi Standar (POS) Produksi Mocaf Berbasis Klaster*. Buku. Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFAST) Center. Institut Pertanian Bogor.
- [14] SNI 7622: 2011. Tepung Mocaf. Badan Standardisasi Nasional
- [15] Surono, I.S. 2004. *Probiotik: Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI, Jakarta.
- [16] Valdez, G.F. 2000. "Maintenance of Lactic Acid Bacteria." *Methods in Biotechnology* 14: 163 – 171.
- [17] Xioyan, L., dan C. Xiguang. 2009. "Drying of Micro-Encapsulated Lactic Acid Bacteria Effects of Trehalose and Immobilization on Cell Survival and Release Properties." *Journal Ocean Univ. China (Oceanic and Coastal Sea Research)* 8: 39 – 44.
- [18] Zayed, G., dan Y.H. Roos. 2004. "Influence of Trehalose and Moisture content on Survival of *Lactobacillus salivarius* Subjected to Freeze-Drying and storage." *Process Biochemistry* 39: 1081 – 1086.
- [19] Zhang, P., W. Zhou, P. Wang, L. Wang, M. Tang. 2013. "Enhancement of Chitosanase Production by Cell Immobilization of *Gongronella sp. JG*". *Brazilian Journal of Microbiology* 44(1): 189 – 195.