

KOMPONEN ASAM ORGANIK TEMPOYAK

(Organic acids component of Tempoyak)

Neti Yuliani

Staf Pengajar pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian,
Universitas Lampung

Diterima 9 September 2004 / Disetujui 11 April 2005

ABSTRACT

This study was mainly conducted to identify the component of organic acids of tempoyak. Acidity and pH changes during fermentation process of fermented tempoyak were also evaluated. The results revealed that there were significant changes in pH ranging from 7 to 4 and acidity (6 mg/g- 38 mg/g) attributed to organic acids present in tempoyak. These organic acids were malic acid (145,9 mg/ml), followed by lactic acid (34,1 mg/ml), and small amount of acetic acid (14,2mg/ml).

Key words: tempoyak; organic acids; pH and acidity

PENDAHULUAN

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) termasuk buah bergizi dengan kandungan protein, karbohidrat dan vitamin yang tinggi. Daging buah durian berisi sekitar 33% karbohidrat (basis berat segar), yang sekitar sepertiganya merupakan pati; 44,50 persen total padatan terlarut; dan 2,70-4,79 persen gula pereduksi (Brown, 1997). Durian juga mengandung hemiselulosa, pektin dan gum (Stanton, 1966), serta lipid sekitar 3-5%, yang jumlahnya bervariasi tergantung pada klon dan sifat alami lemak itu sendiri (Brown, 1997). Protein durian dilaporkan berkisar 2-2,5%, yang merupakan sumber semua asam amino penting dibandingkan persik, jeruk, mangga, cempedak atau pepaya (Brown, 1997). Selain itu, durian segar juga mengandung vitamin C dan vitamin B seperti thiamin, niacin dan riboflavin (Stanton, 1966). Kadar air durian segar dilaporkan sekitar 60-70%, sedangkan pH berkisar 6,7-7,0 (Faradissa, 1996, Yuliana, 2004). Dari segi aroma, etil 2-methylbutanoate merupakan unsur utama aroma buah durian sedangkan campuran belerang dilaporkan bertanggung jawab terhadap aroma seperti bawang (Baldry et al., 1972; Moser et al., 1980; dan Weenen et al., 1996).

Pengukuran terhadap CO₂ dan produksi etilen selama pematangan menunjukkan buah durian termasuk buah klimakterik (Tongdee et al., 1989; Biale dan Young, 1981). Selama pematangan juga terjadi penurunan berat buah, pelunakan jaringan, penurunan kandungan pati bersamaan dengan peningkatan total solid, total gula dan beta-carotene (Ketsa dan Pangkool, 1995). Karena tergolong buah klimakterik, durian umumnya mempunyai umur simpan yang relatif pendek mudah membusuk akibat

perubahan kimia, aktifitas enzim dan mikroba. Penyimpanan daging buah durian pada suhu kamar hanya bertahan 2-4 hari (Jenie, 1978 dan Faradissa, 1996). Setelah 4 hari, terjadi perubahan kualitas buah durian seperti penurunan pH yang semula 7,0 menjadi 5,5; berair dan lunak, penurunan vitamin C serta peningkatan jumlah mikroba (Faradissa, 1996).

Beberapa cara dilakukan orang untuk mengawetkan dan mengembangkan produk olahan buah durian, diantaranya tempoyak (Irwandi dan Che-Man, 1996; Morton, 1987; Gandjar, 2000). Tempoyak umumnya mempunyai aroma durian fermentasi yang khas, berkonsistensi semi padat dan berwarna putih sampai kekuningan yang secara luas dikonsumsi di Malaysia dan Indonesia, sebagai bumbu masakan (Battcock dan Ali, 1998; Irwandi dan Che-Man, 1996). Morton (1987) menyebutkan tempoyak dikonsumsi sebagai makanan tambahan khusus di Palembang, Indonesia. Tempoyak juga ditemukan di daerah Lampung dan Jambi.

Untuk memproduksi tempoyak, daging buah durian diolah dengan cara fermentasi dengan penambahan garam dalam wadah tertutup. Fermentasi pada umumnya berkisar tujuh hari, dan daging durian berubah dari massa yang padat ke semisolid disertai dengan suatu aroma asam yang kuat (Battcock dan Ali, 1998; Yuliana, 2004). Garam sebagai suatu agen pengawet akan mencegah pertumbuhan jasad renik lain tetapi mendukung fermentasi bakteri asam laktat. Garam menarik air dan bahan gizi dari jaringan bahan yang difermentasi, kemudian bahan gizi ini menjadi substrat untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Bakteri ini merupakan kelompok bakteri Gram positif, tidak berspora, *microaerophilic*, cocci atau batang, katalase

negatif, memerlukan substrat karbohidrat sebagai sumber energi dan menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir utama fermentasi serta gas karbon dioksida dan asam organik lainnya (Sharpe, 1979; Dizon, 2002; Battcock dan Ali, 1998). Keberadaan asam organik ini menyebabkan produk fermentasi berasa asam.

Sejauh ini, informasi tentang perubahan keasamaan (pH) yang terjadi selama fermentasi tempoyak telah banyak dilaporkan. Merican (1977) melaporkan kadar keasamaan tempoyak yang diproduksi di Malaysia sekitar 3,6% (sebagai asam asetat) dengan pH akhir 3,8 sampai 4,6; sedangkan Halim (1985) dan Nurainy (1991) melaporkan pH tempoyak hasil penelitiannya berturut-turut berkisar 4,13 dan 4,00 dengan kadar keasamaan sekitar 2,56% dan 2,55% (sebagai asam laktat) pada tempoyak yang berasal dari Indonesia. Kadar keasamaan tempoyak yang tinggi disebabkan oleh aktifitas bakteri asam laktat atau bakteri asam asetat (Steinkraus et al., 1983). Namun demikian, identifikasi asam organik yang menyebabkan perubahan keasamaan tersebut belum pernah dilaporkan para peneliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi asam organik tempoyak yang diproduksi setelah fermentasi selama 8 hari. Sebagai data pendukung juga dilakukan pengukuran pH dan keasamaannya (total acidity).

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan utama penelitian ini adalah daging buah durian yang diperoleh dari pasar lokal. Bahan kimia terdiri dari NaCl, NaOH, phenolphthalein, H₂SO₄, asam malat, asam suksinat, asam asetat, asam laktat, dan asam sitrat serta air bebas ion. Alat-alat terdiri dari Scimadzu LC10AS HPLC, pH meter, dan alat gelas dan plastik

Pembuatan tempoyak

Pembuatan tempoyak dilakukan dengan cara mencampurkan daging buah durian yang telah dipisahkan dari bijinya dengan garam dapur (NaCl) sebanyak 3% (b/b) secara merata dalam wadah plastik tertutup. Campuran ini kemudian difermentasi pada suhu ruang selama 8 hari.

Pengukuran pH dan total keasamaan

Perubahan pH diukur dengan menggunakan sebuah pH meter, sedangkan total keasamaan ditentukan dengan metode AOAC (2000). Lima belas gram sampel diencerkan dengan air suling untuk mendapatkan 150 ml suspensi. Sampel kemudian distirer selama 20 menit dan disaring dengan kertas Whatman no 42. Supernatan kemudian ditransfer ke alat gelas lain yang bersih. Dua puluh lima ml ekstrak kemudian dititrasi dengan NaOH

0,1N standar menggunakan indikator phenolphthalein. Jumlah keasamaan tertitrasi dihitung sebagai asam malat pergram sampel sebagai berikut:

$$\text{Total keasamaan} = \frac{N \text{ NaOH} \times \text{ml NaOH} \times 0,067 \times 1000}{\text{berat sampel (g)}}$$

Asam malat dipilih sebagai basis perhitungan karena asam ini merupakan asam dominan tempoyak pada penelitian ini (berdasarkan pengujian menggunakan HPLC). Dalam analisis kimia pangan, asam tertitrasi dinyatakan sebagai asam dominan yang terkandung pada sampel (Nielsen, 1994).

Identifikasi asam-asam organik

Identifikasi asam organik tempoyak dilakukan dengan HPLC yang mengacu pada metode Kim dan Sohn (2001). Sebanyak 20 mikroliter sampel tempoyak yang telah difiltrasi terlebih dahulu dengan 0,45µm filter membran dan Seppack C-18 cartridge diinjeksikan ke HPLC dengan kondisi sebagai berikut: Scimadzu LC10AS HPLC, kolom Polysphere OA HY dengan ukuran 6 mm x 300 mm; fase mobil menggunakan 0,01 N H₂SO₄, laju alir 0,8ml/menit. Puncak area dari masing-masing asam organik di hitung dengan sistem data stasiun integrator HPLC. Organik standar yang digunakan adalah asam malat, asam suksinat, asam asetat, asam laktat dan asam sitrat. Pemilihan jenis asam-asam organik ini mengacu pada produk fermentasi kimchi, karena merupakan fermentasi sejenis (fermentasi bakteri asam laktat) dengan substrat yang juga mengandung sulphur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Asam organik teridentifikasi dari tempoyak yang berumur 8 hari dapat dilihat pada Table 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya asam malat yang merupakan produk primer, sedangkan yang lainnya asam laktat dan asam asetat merupakan produk sekunder fermentasi. Hasil ini nampaknya mendukung pustaka yang pernah dilaporkan sebelumnya tentang keasamaan tempoyak. Merican (1977) menyatakan keasamaan tempoyak sebagai asam asetat, sementara Halim (1985) dan Nurainy (1991) mengasumsikan keasamaan tempoyak sebagai asam laktat. Akan tetapi tidak satupun peneliti terdahulu menghitung keasamaan tempoyak sebagai asam malat. Hal ini menarik, mengingat peneliti terdahulu tidak melakukan analisis terhadap jenis asam organik terbesar yang terdapat pada tempoyak sementara perhitungan acidity (keasamaan) haruslah merujuk ke jenis asam organik terbesar dalam suatu produk (Nielsen, 1994).

Asam organik teridentifikasi dari tempoyak yang berumur 8 hari dapat dilihat pada Table 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hanya asam malat yang merupakan produk primer, sedangkan yang lainnya asam laktat dan asam asetat merupakan produk sekunder fermentasi. Hasil ini nampaknya mendukung pustaka yang pernah dilaporkan sebelumnya tentang keasamaan tempoyak. Merican (1977) menyatakan keasamaan tempoyak sebagai asam asetat, sementara Halim (1985) dan Nurainy (1991) mengasumsikan keasamaan tempoyak sebagai asam laktat. Akan tetapi tidak satupun peneliti terdahulu menghitung keasamaan tempoyak sebagai asam malat. Hal ini menarik, mengingat peneliti terdahulu tidak melakukan analisis terhadap jenis asam organik terbesar yang terdapat pada tempoyak sementara perhitungan acididty (keasaamaan) haruslah merujuk ke jenis asam organik terbesar dalam suatu produk (Nielsen, 1994).

Table 1 Asam organik yang teridentifikasi pada tempoyak*

ASAM ORGANIK	Jumlah (mg/ml)
Asam sitrat	**
Asam malat	145,9
Asam suksinat	**
Asam laktat	34,1
Asam asetat	14,2

* Durian segar mempunyai pH sekitar 6,7-7,0; karenanya tidak dilakukan pengujian asam organik.

**Tidak teridentifikasi

Variasi reaksi metabolit dapat terjadi pada fermentasi oleh bakteri asam laktat. Asam organik terbesar yang berhasil diidentifikasi pada tempoyak adalah asam malat (145,9 mg/ml) diikuti oleh asam laktat (34,1 mg/ml) dan sedikit asam asetat (14,2 mg/ml). Komposisi ini berbeda dengan asam organik yang dilaporkan beberapa fermentasi sejenis. Pada fermentasi salad kentang yang menggunakan 3 strain *Lactobacillus* yang berbeda, asam organik terbesar yang diproduksi adalah asam laktat, kemudian asam asetat (Roumbouts dan Nout, 1995). Tetapi tidak ada penjelasan apakah asam malat tidak dievaluasi atukah produk tersebut tidak mengandung asam tersebut. Evaluasi asam organik terhadap fermentasi kimchi menunjukkan asam laktat merupakan produk utama pada akhir fermentasi. Asam organik lain seperti asam sitrat dan asam suksinat tidak ditemukan pada tempoyak hasil penelitian ini. Sebaliknya, asam organik ini dilaporkan sebagai asam *non-volatile* utama pada produk fermentasi asam laktat pada kimchi (*dongchimi radish*) selain asam malat, asam laktat dan asam asetat (Kim dan Sohn, 2001).

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang dalam aktifitasnya memanfaatkan substrat

karbohidrat kompleks sebagai sumber energi dan menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir utama fermentasi serta gas karbon dioksida dan asam organik lainnya, tanpa memerlukan oksigen (Sharpe, 1979; Dizon, 2002; Battcock dan Ali, 1998). Semua jenis bakteri asam laktat mempunyai reaksi khas, tetapi secara keseluruhan jenis-jenis *Streptococcus* dan *Leuconostoc* menghasilkan asam lebih sedikit. Heterofermenter *Lactobacillus* akan menghasilkan jumlah asam yang sedang, diikuti oleh *Pediococcus*, sebaliknya homofermenter *Lactobacillus* menghasilkan keasamaan paling tinggi (Battcock dan Ali, 1998). Dalam hal ini tidak dijelaskan ukuran keasamaan produksi jenis-jenis bakteri asam laktat tersebut, namun umumnya tingkat keasamaan fermentasi ditentukan dengan total asam tertitrisasi dan pH.

Homofermenter mengkonversi gula terutama menjadi asam laktat sedang heterofermenter menghasilkan sekitar 50% asam laktat, lebih 25% asam asetat dan etil-alkohol, dan 25% gas carbon dioksida (Sharpe, 1979; Stiles dan Holzappel, 1997; Dizon, 2002). Namun demikian, kelompok bakteri asam laktat dapat melakukan reaksi metabolit yang bervariasi. Menurut Caspritz dan Radler (1983), dua asam organik penting yang dimetabolis oleh bakteri asam laktat adalah asam malat dan asam sitrat. Umumnya *Lactococci*, *Pediococci*, *Leuconostoc*, *Enterococci* dan *Lactobacilli* mengkatalis dekarboksilasi L-malat menjadi L-laktat dan CO₂ dengan enzim malo-laktat. Untuk reaksi ini diperlukan Mn²⁺ dan NADH tanpa memproduksi piruvat. Berbeda halnya dengan malo-laktat, enzim pada *Lactobacillus plantarum* mendekarboksilasi oksaloasetat, satu dari intermediate metabolisme sitrat menjadi pyruvate pada laju yang sama dengan dekarboksilasi malat menjadi laktat. Produk akhir dari bakteri asam laktat yang mempunyai metabolisme asam sitrat adalah CO₂, asetoin, 2,3 butanediol dan sedikit diasetil (Speckman dan Collins, 1968). Dengan demikian terdapat dua tipe kultur bakteri asam laktat, pertama adalah kelompok yang dominan yaitu yang tidak dapat memanfaatkan asam sitrat (cit⁻) dan kedua kultur yang memanfaatkan sitrat (cit⁺) dalam metabolismenya untuk memproduksi diasetil (Cogan, 1995). Perbedaan antara cit⁻ dan cit⁺ pada genus *Lactococci* misalnya, adalah adanya plasmid yang bersandi untuk transpor asam sitrat. Diantara starter bakteri asam laktat, metabolisme sitrat hanya dilakukan oleh cit⁺ *Lactococci* dan *Leuconostoc spp* (Cogan, 1995). Kemampuan untuk mentranspor sitrat tersebut disandikan oleh plasmid-plasmid (Lin, et al., 1991). Ramos et al., (1994) melakukan studi dengan NMR, yang menunjukkan bahwa produk utama bakteri asam laktat yang memetabolisme asam sitrat adalah asam laktat pada strain *L. lactis*, tetapi asetoin juga diproduksi jika strain tersebut mempunyai enzim alpha-asetoasetat dekarboksilase. Mengacu pada hasil penelitian di atas,

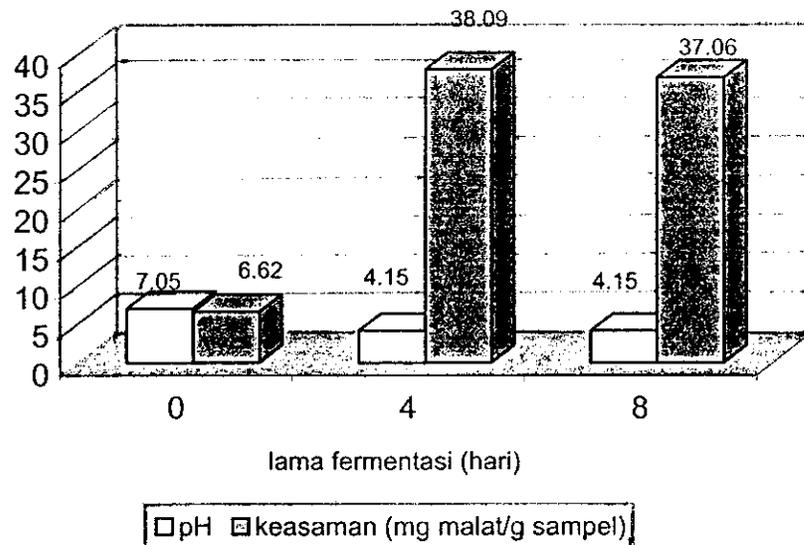
kemungkinan besar bakteri yang berperan dalam tempoyak adalah bakteri kelompok malo-laktat yang memetabolisme asam malat menjadi asam laktat. Hal ini didukung oleh kenyataan tidak ditemukannya asam sitrat pada produk. Diasumsikan pula bahwa masih banyak malat yang tidak terkarboksilasi menjadi laktat, sehingga kandungan asam malat teridentifikasi sebagai asam organik dominan pada fermentasi ini. Alasan ini akan menjadi jelas jika dilakukan studi tentang *pathway* metabolisme bakteri asam laktat. Kemungkinan lain yang dapat dibuat asumsi adalah banyaknya asam laktat yang telah terkonversi menjadi metabolit lainnya, diantaranya asam asetat serta metabolit lain yang tidak terdeteksi pada penelitian ini. Penelitian Oude-Elferink et al., (2001) menunjukkan bahwa bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus buchneri* dapat mengkonversi asam laktat menjadi asam asetat, 1,2 propanediol dan sedikit ethanol, karenanya dia mengusulkan tambahan *pathway* baru bagi bakteri asam laktat tersebut.

Metabolit yang dihasilkan, oleh bakteri asam laktat dengan demikian selain dipengaruhi oleh kondisi fermentasi juga sangat dipengaruhi oleh strain bakteri asam laktat yang berperan selama fermentasi berlangsung. Ragam bakteri asam laktat yang dilaporkan beberapa peneliti yang terdapat pada tempoyak adalah *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. mali*, *L. fermentum* (Leisner et al., 2001; Issa 2000; dan Ohhira, 1999). Wirawati (2002) berhasil mengisolasi *L. plantarum*, *L. casei*, dan *L. corynebacterium* dari tempoyak Indonesia. Leisner et al., (2002) melaporkan jenis baru bakteri asam laktat *Lactobacillus*, *L. durianis sp.*, yang diisolasi dari tempoyak Malaysia. Bakteri asam laktat

lainnya yang berhasil diisolasi dari tempoyak adalah *Leuconostoc mesenteroides* dan *Enterococcus faecium* (Leisner et al., 2001; dan Ohhira, 1999); *Pediococcus acidilactici* dan *Weissella mesenteroides* (Yuliana et al., 2004). Dengan demikian, terdapat ragam bakteri asam laktat di tempoyak yang memungkinkan komponen asam organik yang dihasilkan bervariasi pula.

Selain itu, jalur produksi asam laktat oleh dua kelompok bakteri asam laktat berbeda satu sama lain. Homofermenter seperti *Lactococci*, *Lactobacilli thermophilic* dan *Streptococcus thermophilus* menghasilkan sebagian besar asam laktat, melalui jalur glycolytic (GP). Tetapi, bakteri tersebut juga memfermentasi pentosa menjadi asam asetat dalam jumlah kecil. Sebaliknya heterofermenter seperti *Leuconostoc*, golongan III *Lactobacilli*, *Oenococci* dan *Weissella* menghasilkan asam laktat dan sejumlah asam asetat yang cukup besar, ethanol, mannitol dan gas karbon dioksida, melalui jalur 6-phosphogluconate/phosphoketolase (PKP) (Cogan, 1995; Battcock dan Ali, 1998). Kondisi normal yang diperlukan untuk jalur ini adalah gula berlebih dan oksigen yang terbatas. Selain itu terdapat perbedaan yang besar diantara bakteri asam laktat dalam kemampuan memfermentasi gula pentosa, ribosa dan xylosa seperti yang ditunjukkan oleh *Lactobacillus spp* (Batt, 1999)

Keberadaan asam organik yang diproduksi oleh bakteri asam laktat selama fermentasi memberi kontribusi pada aroma dan keasaman tempoyak. Perubahan pH dan keasamaan pada tempoyak tampak pada gambar 1.



Gambar 1. Perubahan pH dan keasaman selama fermentasi

Secara umum, perubahan keasaman terjadi pada hari ke 4 fermentasi yaitu pada saat meningkatnya total asam dari 6 mg/g ke 38 mg/g bersamaan dengan penurunan pH. Pada awal fermentasi pH terukur 6,9-7,0 kemudian menurun menjadi 4,0-4,2. Perubahan nyata dari keasaman tempoyak tersebut disebabkan oleh adanya asam organik yang diproduksi oleh bakteri asam laktat terutama asam malat, laktat dan asetat sebagaimana hasil analisa di atas. Perubahan pH dan keasaman tersebut tidak banyak berbeda seperti yang dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya yang berkisar 3,8 sampai dengan 4,6 (Merican, 1977; Halim, 1985; Nurainy, 1991; dan Rahmawaty, 2000). Namun demikian, pH akhir yang dicapai pada penelitian ini (4,0-4,2) sedikit lebih tinggi jika dibandingkan dengan pH produk fermentasi sejenis misalnya kubis yang difermentasi yang mempunyai rentang pH 3,5-3,82 dan pH 3,9-3,9 pada *dongchimi* (Steinkraus et al., 1983 dan Kim dan Sohn, 2001).

KESIMPULAN

Selama fermentasi terjadi peningkatan keasamaan yang menyebabkan pH turun dari sekitar pH 7 menjadi sekitar 4. Hal ini berkaitan dengan asam organik yang diproduksi oleh bakteri asam laktat selama fermentasi. Asam organik terbesar pada penelitian ini adalah asam malat, disusul asam laktat dan sejumlah kecil asam asetat. Diperlukan studi metabolisme bakteri asam laktat pada fermentasi tempoyak untuk memperjelas keberadaan asam malat yang tidak terkarboksilasi sepenuhnya menjadi asam laktat.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC.** 2000. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist. Washington DC. Association of Official Analytical Chemist.
- Baldry, J., Dougan, J. dan Howard, G.E.** 1972. Volatile flavoring constituents of durian. *Phytochemistry*, 11:2081-2084.
- Batt, C.A.** 1999. *Lactobacillus*. In Robinson, R.K., Batt, C.A. dan Patel.P. (Editor). *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press. New York.
- Battcock, M dan S.A. Ali.** 1998. Fermented Fruits and Vegetables, A Global Perspective. FAO Agricultural Services Bulletin No 134. Rome. Italy
- Biale, J.B. dan Young, R.E.** 1981. Respiration and Ripening in Fruits-retrospect and Prospect. In Friend, J dan Rhodes, M.J.C (Editor). *Recent Advances in the Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Academic Press, London, 1-39
- Brown, M.J.** 1997. Durio, A Bibliographic Review. APO International Plant Genetic Resources Institute. New Delhi. 188 pp.
- Caspritz, G dan Radler, F.** 1983. Malolactic enzyme of *Lactobacillus plantarum*. purification, properties and distribution among bacteria. *J. Biol. Chem.* 258: 4907-4910.
- Cogan, T.M.** 1995. Flavor production by dairy starter cultures. *J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement 1995*, 79: 49S-64S.
- Dizon, E.I.** 2002. Handout of Advanced Food Microbiology. Institute of Food Science and Technology. UPLB, Laguna. Philippines.
- Faradissa.** 1996. Mempelajari Pengaruh Pengemasan Vakum Terhadap Mutu Buah Durian (*durio zibathinus* Murr.) Selama Penyimpanan Suhu Kamar (25°C) Dan Dingin (5°C). Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Gandjar, I.** 2000. Fermentations of the Far East in Robinson, R.K., Batt, C.A dan Patel, P.D. (editor). *Encyclopedia of Food Microbiology*, Vol 2. Academic Press, New York, London, p. 767-773.
- Halim, D.** 1985. Mempelajari Perubahan Kimia dan Mikrobiologik Selama Fermentasi Tempoyak. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Irwandi dan Y.B. Che-Man.** 1996. Durian leather: development, properties and storage stability. *J. Food Quality* 19 (6): 439-489
- Issa, Z.M.** 2000. Molecular Characterization of *Lactobacillus Plantarum* Isolated from Malaysian Fermented Foods. MS Thesis. Universiti Putra Malaysia.
- Jenie, B.S.L.** 1978. Mutu Daging Buah Durian Selama Penyimpanan Dalam Lemari Beku. Tesis. Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ketsa, S. dan S. Pangkool,** 1995. The effect of temperature and humidity on the ripening of durian fruits. *J. Horti. Sci.* Vol 70(5): 827-831.
- Kim, H.J. and K.H. Sohn.** 2001. Flavour compounds of dongchimi soup by different fermentation temperature and salt concentration. *Food Sci Biotechnol* 10 (3):236-240.

- Leisner, J.J., Vancanneyt, M., Rusul, G., Pot, B., Lefebvre, K., Fresi, A. dan Tee, L.K. 2001. Identification of lactic acid bacteria constituting the predominating microflora in an acid-fermented condiment (tempoyak) popular in Malaysia. *Int. J. Food Microbiol.* 63:149-157.
- Leisner, J.J., Vancanneyt, M., Lefebvre, K., Vandemeulebroecke, K., Hoste, B., Euras-Vilalta, N., Rusul, G. dan Swings, J. 2002. *Lactobacillus durianis* sp.nov., Isolated from an acid-fermented condiment (tempoyak) in Malaysia. *Int. J. Syst Evol Microbiol.* 52: 927-931.
- Lin, J., Schmitt, P dan Divies, C. 1991. Characterization of a citrate negative mutant of *Leuconostoc mesentroides* subsp *mesentroides*: metabolic and plasmidic properties. *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 34: 628-631.
- Merican, Z. 1977. Malaysian Tempoyak. Symposium on Indigenous Fermented Foods, Bangkok, Thailand. In: Steinkraus, K.H. (editor.), *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker, New York. p 128-130.
- Morton, J. 1987. Durian. In: Morton, J.F (editor). *Fruits of Warm Climates*. Miami, Florida. p.287-291.
- Moser, R., Duvel, D. dan Greve, D. 1980. Volatile constituents of durian (*Durio Zibethinus* Murr.). *Phytochemistry*, 19,79-81.
- Nielsen, S.S. 1994. *Introduction to The Chemical Analysis of Foods*. Jones and Barlett Publishers, Boston.
- Nurainy, F. 1991. Aspek kimia dan mikrobiologi fermentasi tempoyak. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. UGM, Yogyakarta.
- Ohhira, I. 1999. Properties of Lactic Acid Bacteria from Fermented Foods. <http://www.pjbs.org> (15 Maret 2002).
- Oude-Elferink, S.J.W.H., Krooneman, J., Gottschal, J.C., Spoelstra, S.F., Faber, F dan Driehuis, F. 2001. Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2- propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *J. Appl. and Environ. Microbiol.* Vol 67(1):125
- Ramos, A., Jordan, K.N., Cogan, T.M. dan Santos, H. 1994. 13 C-NMR studies of citrate and glucose co-metabolism by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 : 1739-1748.
- Rahmawaty, Y. 2000. Pengaruh Pemberian Garam Terhadap Bakteri Asam Laktat Pada Fermentasi Durian (Tempoyak). Skripsi. Universitas Gajah Mada.
- Rombouts, F.M dan Nout, M.J.R. 1995. Microbial fermentation in the production of plant foods. *J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement* 1995, 79,108S-117S.
- Sharpe, M.E. 1979. Identification of The Lactic Acid Bacteria. In: Skinner, F.A dan Lovelock, D.W. (editor). *Identification Methods for Microbiologist*. Academic Press. London.
- Speckman, R.A. dan Collins, E.B. 1968. Diacetyl biosynthesis in *Streptococcus dyacetylactis* and *Leuconostoc citrovorum*. *J. Bacteriol.* 95, 174-180.
- Stanton, F.W 1966. The chemical composition of some tropical food plants: durian. *Tropical Sci.* 8: 6-10
- Steinkraus, K.H., Cullen, R.E., Pederson, C.S., Nellis, L.F. dan Gavitt, B.K. 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Stiles, M.E. dan Holzapel, W.H. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.*, 36:1-29.
- Tongdee, S.C.A., Chayasombat, A. dan Neamprem, S. 1989. Respiration, Ethylene Production and Changes in The Internal Atmospheres of Durian (*Durio Zibethinus* Murr.). In *Proceedings of Durian Workshop*. 1988. Bangkok. Thailand institute of Scientific and Technological Research, Bangkok.
- Weenen, H., Koolhaas, W.E., dan Apriyantono, A. (1996). Sulfur-Containing Volatile of Durian Fruits (*Durio zibethinus* Murr). *J. Agric. Food. Chem.* 44: 3291-3293.
- Wirawati, C.U. 2002. Potensi Bakteri Asam laktat dari Tempoyak sebagai Probiotik. Tesis. Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yuliana, N. 2004. Biochemical Changes in Fermented Durian. Dissertation. University of Philippines, Los banos. Laguna, Philippine.
- Yuliana, N., Garcia, V.V., Dizon, E.I dan Okada, S 2004. Lactic acid bacteria isolated from tempoyak. *J. The Philippine Agric. Sci.* (sedang dalam proses)