

# **PRODUKSI RAGI KOPI KULTUR TUNGGAL: *Leuconostoc mesenteroides* DAN *L. paramesenteroides* DARI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) KOPI LUWAK**

*Production of Dry Yeast Coffee Single Strain: *Leuconostoc mesenteroides* dan *L. Paramesenteroides* From Lactic Acid Bacteria (LAB) Isolat Luwak Coffee*

**Mukhammad Fauzi<sup>1)</sup>, Setiadji<sup>1)</sup>, Megawati<sup>2)</sup>**

1) Dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, Universitas Jember

2) Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP,  
Universitas Jember

## **ABSTRACT**

*The presence of microbes mainly lactic acid bacteria are thought to play a role in the process of microbial fermentation in the digestive tract of animals during the mungoose. Efforts need to be engineered so that the yeast fermentation of animal dung to produce a Luwak Coffee Luwak coffee berspesifikasi high quality based on the alleged role of lactic acid bacteria (LAB) in fermented Luwak coffee. This research aims to produce dry yeast single culture of *Leuconostoc isolates mesenteroides* and *Leuconostoc paramesenteroides* with the addition of the appropriate filler agent, and to know the level of viability of yeast products produced during storage. The parameters observed in this study include: calculation of bacteria using PCA (Plate Count To), water content of yeast, sugar reduction method of Nelson-Somogy, pH and total acid. Results The study found that the optimum filler agent for the growth of *Leuconostoc mesenteroides* and *Leuconostoc paramesenteroides* is rice flour. microbial population in rice flour filler agent that is still very much during the storage in the second appeal filler agents, namely maize and tapioca. Successive growth of *Leuconostoc mesenteroides* using cornstarch, tapioca and rice at the end of the storage is  $1.5 \times 10^9$  CFU / g,  $1.7 \times 10^7$  CFU / g and  $2.2 \times 10^{10}$  CFU / g. *Paramesenteroides* *Leuconostoc* populations in a row on cornstarch, tapioca and rice is  $6.3 \times 10^{10}$  CFU / g,  $2 \times 10^7$  CFU / g and  $8.6 \times 10^{10}$  CFU / g.*

**Key words:** *dry yeast, lactic acid bacteria, fermentation ,filler agent*

## **PENDAHULUAN**

Kopi (*Coffea spp*) merupakan bahan minuman yang sudah tidak asing lagi. Aromanya yang harum, rasanya yang nikmat, serta khasiatnya yang dapat memberikan rangsangan penyegaran badan, membuat kopi cukup akrab di lidah dan digemari. Bagi petani, kopi bukan hanya sekedar minuman segar dan berkhasiat, tetapi juga mempunyai arti ekonomi yang cukup penting. Sejak puluhan tahun yang lalu kopi telah menjadi sumber nafkah bagi banyak petani.

Indonesia dikenal sebagai salah satu produsen kopi terbesar di dunia, selain Brasil, Kolombia dan Vietnam. Di sebagian besar wilayah Indonesia, umumnya petani menanam kopi jenis

robusta, sementara kopi jenis arabika hanya ditanam oleh kurang dari 10% petani kopi (Warta Ekonomi, 2007). Data menunjukkan bahwa lebih dari 4 triliun cangkir kopi dikonsumsi setiap tahun. Kopi juga menjadi komoditas ekspor andalan Indonesia. Setiap tahun ekspor kopi Indonesia berkisar 300.000-350.000 ton. Akan tetapi, angka ekspor ini sangat fluktuatif dari tahun ke tahun (Herman, 2003; Warta Ekonomi, 2007). Ekspor kopi Indonesia baru sebatas biji kopi, bukan produk yang siap dikonsumsi. Mutu produk kopi Indonesia terutama hasil perkebunan rakyat juga masih sangat rendah dan sangat variatif antara produsen yang satu dengan yang lain. Salah satu penyebabnya adalah proses pengolahan biji kopi yang belum memenuhi standar.

Salah satu manfaat kopi sebagai *stimulan agent* (Xu *et al.*, 2005), data menunjukkan bahwa lebih dari 4 triliun cangkir kopi dikonsumsi setiap tahun. Di dunia, kopi menjadi komoditas perdagangan terbesar kedua setelah minyak. Kopi juga menjadi komoditas ekspor andalan Indonesia. Setiap tahun ekspor kopi Indonesia berkisar 300.000-350.000 ton. Akan tetapi, angka ekspor ini sangat fluktuatif dari tahun ke tahun (Herman, 2003; Warta Ekonomi, 2007). Terlebih, ekspor kopi Indonesia hanya sebatas biji kopi, bukan produk yang siap konsumsi. Bahkan mutu produk kopi Indonesia terutama hasil perkebunan rakyat masih rendah dan sangat variatif antara produsen yang satu dengan lainnya. Salah satu penyebabnya adalah proses pengolahan biji kopi yang belum memenuhi standar.

Proses pengolahan kopi ada dua, yaitu pengolahan secara kering dan pengolahan secara basah. Pengolahan secara kering masih menjadi metode andalan yang dilakukan oleh petani, padahal kualitas hasil dari metode tersebut relatif lebih rendah dibanding pengolahan secara basah yang didalamnya terdapat proses fermentasi (Anonim, 2003). Hal ini karena petani memandang proses pengolahan secara kering relatif lebih mudah dan lebih efisien terlebih dengan kuantitas produksi yang tidak terlalu banyak dibanding kopi perkebunan. Oleh karena itu perlu ditelaah teknologi pengolahan kopi secara fermentasi yang lebih mudah dilakukan oleh petani. Salah satu metode yang perlu dikembangkan adalah proses fermentasi alami dari sistem pencernaan binatang luwak yang telah terbukti menghasilkan biji kopi dengan kualitas dan flavor yang lebih baik.

Fermentasi dalam perut luwak merupakan fermentasi yang sempurna. Mikroba yang ada di dalam perut luwak mampu bekerja dengan sempurna yang menyebabkan rasa kopi luwak menjadi nikmat. Isolasi mikroba yang aktif dalam kotoran luwak telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya dan telah ditemukan 5 spesies BAL (Bakteri Asam Laktat) dan

teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides*, dan *Streptococcus faecium*. Prosentase jumlah meraka berturut-turut 21,74%; 17,39%; 21,74%; 26,09%; dan 13,04%. Mikroba-mikroba tersebut kemudian dikembangkan oleh peneliti selanjutnya.

Peneliti selanjutnya melakukan kajian mengenai pertumbuhan BAL pada sumber karbon tetes tebu dan gula pada konsentrasi yang berbeda. Hasil penelitian tersebut didapatkan jumlah sel bakteri paling banyak pada sumber karbon dari tetes tebu 1-1,5%. Tetes tebu tersebut akan digunakan sebagai nutrisi bagi pertumbuhan bakteri asam laktat.

Bahan pembuatan ragi yang sering dijumpai di pasar pada umumnya merupakan biakan mikroba baik khamir, kapang maupun bakteri yang dicampur dengan tepung dan berbagai macam bumbu sebagai pembentuk rasa dan aroma. Tepung digunakan selain sebagai sumber karbon juga sebagai bahan pengisi ragi. Tepung yang biasa digunakan sebagai pembuatan ragi seperti tepung beras, tepung tapioka, dan tepung jagung (Maizena). Tepung-tepung tersebut digunakan sebagai sumber nutrisi yang baik bagi pertumbuhan mikroba.

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan ragi kultur tunggal kering dari isolat *Leuconostoc mesenteroides* dan *L. paramesenteroides* dengan penambahan *filler agent* yang tepat, mengetahui teknik produksi pembuatan ragi yang tepat, serta mengetahui tingkat viabilitas produk ragi yang dihasilkan selama masa penyimpanan.

## METODE PENELITIAN

Kegiatan penelitian ekperimental ini terdiri atas kegiatan : pembuatan starter dan ragi, uji ragi kering, dan analisis parameter.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi luwak, tetes 1%, tepung beras, tepung jagung, tepung tapioka, aquades, GYP broth, starter

bakteri (*Leuconostoc paramesentoroides* dan *Leuconostoc mesentoroides*), larutan gula standar, pereaksi Nelson, pereaksi arsenomolibdat, larutan Pb-asetat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet, autoklaf, colony counter, cawan petri, tabung reaksi, laminair air flow, ose, blue tip, ependrof, inkubator, petridish, bunsen, erlenmeyer, gelas volum, gelas ukur, botol semprot, pipet tetes dan spatula, spektrofotometri, pH meter, alumunium foil, kain saring, oven, botol timbang, eksikator.

### Pembuatan Starter

Sejumlah 5 ml GYP broth digoreskan dengan 1 ose bakteri (*Leuconostoc mesentoroides* dan *Leuconostoc paramesentoroides*). Kemudian didiamkan selama 24 jam menggunakan shaker. Setelah 24 jam starter di tuang kedalam 40 ml tetes 1,5% dan didiamkan selama bakteri mencapai titik stasioner, untuk *Leuconostoc mesentoroides* selama 18 jam sedangkan *Leuconostoc paramesentoroides* selama 20 jam. Diagram alir pembuatan starter bakteri dan penumbuhan bakteri kedalam media tetes 1,5 %.

### Pembuatan Ragi

Sejumlah 75 g tepung (Tapioka, Jagung, Beras) dimasukkan kedalam erlemeyer 500 ml, tutup beaker glass menggunakan kapas dan alumunium foil, kemudian autoklaf. Setelah diautoklaf pindahkan tepung tersebut kedalam kantong plastik yang telah di sinari dengan sinar UV. Selanjutnya 40 ml starter bakteri yang telah dibuat dimasukkan kedalam tepung yang terdapat dalam kantong plastik dan aduk hingga starter tercampur dengan tepung, dan inkubasi selama 2 hari dalam suhu 37°C, setelah selesai inkubasi masukkan kedalam petridish berukuran besar secara aseptis, tutup dengan kain setelah itu dikeringkan menggunakan sinar matahari sampai menjadi ragi kering.

### Uji Ragi Kering

0,1 g ragi kering di larutkan ke dalam 10 ml larutan gula 3%, fermentasi

selama 12 jam, kemudian di anlisa jumlah mikroba, pH, % gula sisa, total asam pada 5, 15, 30, 45, 60 hari.

### Analisis Jumlah Mikroba

Sejumlah 1 g sampel di encerkan kedalam garfish 9ml ( $10^{-1}$ ), kemudian ambil 100  $\mu$ l di encerkan kedalam 900  $\mu$ l garfish ( $10^{-2}$ ) didalam ependrof, dilakukan hingga pengenceran  $10^{-8}$ , setelah itu drop 100  $\mu$ l kedalam petridish, diamkan selama 24 jam kemudian hitung jumlah mikroba. Dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah Koloni} = \frac{\sum \text{Koloni/petridish}}{\text{Faktorpengenceran}}$$

### Analisis Kadar gula reduksi (Yazid dan Nursanti, 2006)

#### Pembuatan Kurva Standard

Sebanyak 10 mg glukosa anhidrat dilarutkan dalam 100 ml aquades, dari larutan glukosa tersebut dibuat 6 larutan glukosa standar dengan konsentrasi masing-masing 2,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0; dan 10 mg/100 ml. Setelah itu disiapkan 7 tabung reaksi yang kering dan bersih, kemudian isi masing-masing dari keenam tabung dengan 1 ml larutan glukosa standar di atas, sedangkan satu tabung di isi dengan aquades sebagai blanko. Tambahkan 1 ml pereaksi Nelson pada setiap tabung, lalu panaskan dalam air mendidih selama 20 menit, setelah itu dinginkan hingga mencapai suhu 25°C, setelah dingin tambahkan 1 ml pereaksi arsenomolibdat. Gojok hingga semua endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  yang ada larut kembali. Setelah semua endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  larut sempurna tambahkan 7 ml aquades dan gojoklah hingga homogen, Selanjutnya baca serapan atau absorbansi masing-masing larutan pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Setelah itu dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara kadar gula dan absorbansi.

#### Penentuan Gula Reduksi Sampel (Metode Nelson Somogy)

Sebanyak 0.001 ml sampel di encerkan dalam 100 ml aquades dan ambil 1ml sampel. Kemudian masing-masing

tabung ditambah 1 ml reagen Nelson dan dipanaskan selama 20 menit. Setelah dingin, ditambahkan 1 ml arsenomolybdat kemudian divortex sampai endapan melarut semua. selanjutnya ditambah aquades sebanyak 10 ml dan divortex kembali. Selanjutnya baca serapan atau absorbansi masing-masing larutan pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Kemudian dihitung kadar gula reduksinya melalui persamaan garis yang diperoleh pada pembuatan kurva standar. Prosentase kadar gula reduksi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

Persamaan kurva standar gula reduksi yang terbentuk adalah:

$$y = a x + b$$

dimana:

y = Konsentrasi Glukosa (mg/ml)

x = Nilai absorbansi pada panjang gelombang 540 nm.

$$\text{Gula Reduksi} = \frac{a \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 100 \text{ ml}}{10 \mu\text{l} \times 10^{-3} \text{ ml}/\mu\text{l}}$$

#### Daya Fermentasi Gula

$$\frac{\sum \text{glukosa} - \sum \text{gula reduksi}}{g \text{ ragi} \times \text{lamanya fermentasi (jam)}} \times 10 \text{ ml}$$

#### Analisis Kadar air (Metode oven, Sudarmaji, 1997)

Penentuan kadar air dilakukan dengan metode oven, botol timbang dikeringkan terlebih dahulu selama 1 jam dalam oven pada suhu 105°C, lalu didinginkan didalam eksikator dan kemudian beratnya (x). sampel ditimbang seberat 5 g (y), dimasukkan kedalam oven selama 4-6 jam pada suhu 105°C, lalu didinginkan dalam eksikator dan ditimbang kembali. Pekerjaan ini di ulang sampai 3 kali hingga dicapai berat konstan (z). Adapun rumus penentuan kadar air sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(x+y-z)}{y} \times 100\%$$

Keterangan ; x= berat botol, y= berat sampel, z= berat konstan setelah dioven

#### Analisis nilai pH

Penetapan pH ini dilakukan dengan mencelupkan pH meter ke dalam larutan gula yang telah difermentasi bersama dengan ragi kering. Nilai pH dari suspensi akan tertera pada alat. Sebelum digunakan pH meter dikalibrasi dengan larutan buffer 4, 7, dan 10.

#### Kemampuan produksi asam laktat (Fardiaz, 1989)

Sebanyak 10 ml sampel diambil 5 ml dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan diencerkan dengan aquades sampel yang sudah diencerkan sebanyak 5 ml dan ditambahkan 2 tetes fenoltalein 1%. Titrasi dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH 0,01 N sampai timbul warna merahmuda. Total asam tertitrasi diasumsikan sebagai total asam laktat.

$$\text{Total asam} = \frac{N \times \text{ml titrasix} \times M \times 40}{\text{gragi} \times 12 \text{ jam}}$$

#### Analisis Data

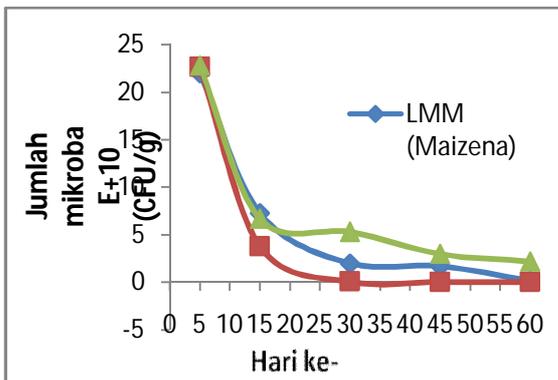
Pengolahan data penelitian menggunakan rancangan penelitian deskriptif. Data hasil pengamatan ditampilkan dalam bentuk table dan untuk mempermudah di di interpretasi data maka dibuat grafik atau histogram.

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan ragi kultur tunggal kering dari isolat *Leuconostoc mesenteroides* dan *L. paramesenteroides* dengan penambahan *filler agent* (maizena, tapioka dan beras) yang tepat, mengetahui teknik produksi pembuatan ragi yang tepat, serta mengetahui tingkat viabilitas produk ragi yang dihasilkan selama masa penyimpanan. Sebagai data penunjang hasil penelitian dilakukan analisa gula reduksi, total asam dan pH selama proses fermentasi ragi di glukosa 3%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Populasi Mikroba dalam Filler Agent

Populasi *Leuconostoc mesenteroides* dapat di lihat pada Gambar 1 di bawah ini. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa selama masa penyimpanan pertumbuhannya di *filler agent* berkurang/menurun.



**Gambar 1.** Populasi *Leuconostoc mesenteroides* pada filler agent selama masa penyimpanan

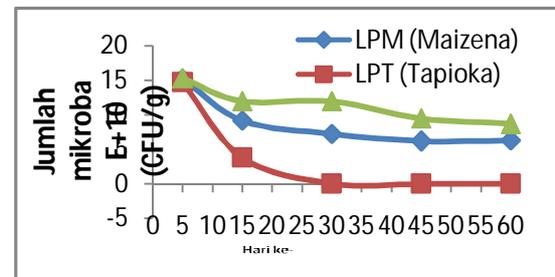
Penelitian ini dilakukan selama dua bulan masa penyimpanan, dan di analisa setiap 5, 15, 30, 45, dan 60 hari. Populasi mikroba pada filler agent tepung beras (LMB) yang masih sangat banyak selama masa penyimpanan di banding kedua filler agent lainnya, yaitu maizena (LMM) dan tapioka (LMT). Populasi *Leuconostoc mesenteroides* mulai menurun pada hari ke 15 masa penyimpanan ragi, yang menggunakan *filler agent* maizena (LMM), tapioka (LMT) dan tepung beras (LMB) secara berturut-turut adalah  $7,3 \times 10^{10}$  CFU/g,  $3,8 \times 10^{10}$  CFU/g dan  $6,7 \times 10^{10}$  CFU/g. Dan mengalami penurunan sampai pada akhir penyimpanan (60 hari). Jumlah populasi *Leuconostoc mesenteroides* pada hari ke 60 pada maizena (LMM), tapioka (LMT) dan tepung beras (LMB) secara berturut-turut adalah  $1,5 \times 10^9$  CFU/g,  $1,7 \times 10^7$  CFU/g dan  $2,2 \times 10^{10}$  CFU/g.

Terlihat bahwa populasi *Leuconostoc mesenteroides* pada *filler agent* tepung beras (LMB) lebih bertahan di banding dengan populasi *Leuconostoc mesenteroides* di kedua *filler agent* lainnya tapioka (LMT) dan maizena (LMM). Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar karbohidrat yang tinggi (Kuswanto dan Sudarmadji, 1988). Di antara ke 3 *filler agent* tersebut tepung beraslah yang memiliki komposisi karbohidrat yang paling tinggi, sehingga *Leuconostoc mesenteroides* mampu bertahan hidup pada tepung beras karena nutrisi karbohidrat

yang tinggi untuk populasi bakteri asam laktat ini.

Populasi *Leuconostoc paramesenteroides* pada masing-masing filler agent, dapat terlihat pada Gambar 2 dibawah. *Leuconostoc paramesenteroides* memiliki populasi yang lebih tinggi di bandingkan dengan *Leuconostoc mesenteroides*. Hal ini terlihat dari populasi selama masa penyimpanan dua bulan pada filler agent yang ada pada Gambar 2.

Sama halnya pada populasi *Leuconostoc mesenteroides*, populasi *Leuconostoc paramesenteroides* menurun pada hari ke 15 masa penyimpanan, pada maizena (LPM), tapioka (LPT) dan tepung beras (LPB) secara berturut-turut adalah  $9,2 \times 10^{10}$  CFU/g,  $3,8 \times 10^{10}$  CFU/g, dan  $12 \times 10^{10}$  CFU/g.



**Gambar 2.** Populasi *Leuconostoc paramesenteroides* pada filler agent selama masa penyimpanan

Pada hari ke 60, populasi *Leuconostoc paramesenteroides* lebih menurun lagi, pada maizena (LPM), tapioka (LPT) dan beras (LPB) secara berturut-turut adalah  $6,3 \times 10^{10}$  CFU/g,  $2 \times 10^7$  CFU/g dan  $8,7 \times 10^{10}$  CFU/g. *Leuconostoc paramesenteroides* baik tumbuh pada tepung beras (LPB) di bandingkan kedua tepung lainnya, terlihat selama 2 bulan penyimpanan pertumbuhannya masih konstan, sama halnya yang terjadi pada pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides*.

Dari **Gambar 1** dan **2** dapat terlihat bahwa viabilitas *Leuconostoc mesenteroides* dan *Leuconostoc paramesenteroides* memiliki viabilitas yang tinggi pada tepung beras, hal ini karena tepung beras memiliki nutrisi baik di banding ke dua tepung lainnya, yaitu maizena dan tapioka.

Menurut Fardiaz,1992 air juga merupakan salah satu yang mempengaruhi populasi sel dalam suatu bahan, namun tidak semua air bisa digunakan oleh jasad renik untuk mempertahankan populasinya, beberapa kondisi air tidak dapat digunakan oleh jasad renik adalah koloid hidrofilik, dapat mengikat air hal ini dapat mengurangi populasi bakteri. Tapioka dan maizena mengikat air lebih kuat dari tepung beras karena bersifat higroskopis, sehingga membuat kondisi lebih kering. Hal ini berakibat pada penurunan viabilitas sel ragi, Banyaknya air yang diikat oleh tapioka dan maizena membuat kondisi bahan semakin kering, sehingga mikroba mengalami dehidrasi dan mengalami kematian sehingga populasi mikroba pada ragi berkurang selama masa penyimpanan berlangsung.

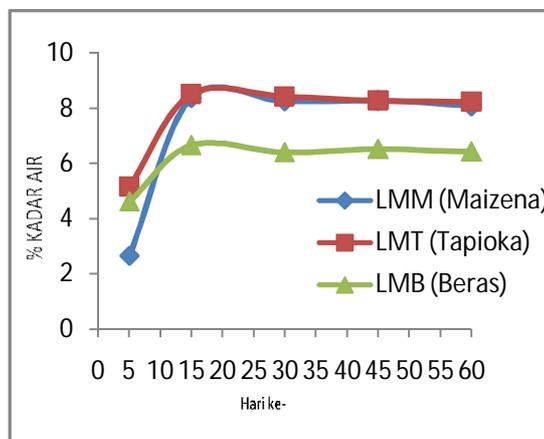
### Kadar Air Ragi

Dilihat dari grafik, kadar air ragi meningkat selama masa penyimpanan berlangsung, masa penyimpanan ragi dilakukan dua bulan menggunakan plastik yang tertutup rapat di dalam eksikator yang di dalamnya terdapat silica gel. Kadar air pada hari ke 5, ragi dengan kultur *Leuconostoc mesenteroides* dengan menggunakan filler agent maizena (LMM), tapioka (LMT) dan tepung beras (LMB) secara berturut-turut adalah 2,648%, 5,145%, dan 4,621%. Selama masa penyimpanan 15 hari berlangsung kadar air meningkat.

Filler agent maizena (LMM), tapioka (LMT) dan tepung beras (LMB) secara berturut-turut adalah 8,369%, 8,504%, dan 6,646%,. Dan di hari penyimpanan selanjutnya kadar air tidak ada perubahan yang signifikan dan cenderung konstan.

Sama halnya pada ragi yang berisikan isolat *Leuconostoc mesenteroides*, peningkatan kadar air terjadi pada masa penyimpanan ragi. Persentase kadar air pada hari ke 5 pada ragi sangatlah kecil, dan meningkat drastis pada hari ke 15 penyimpanan. Pada hari ke 5 kadar air pada ragi di maizena (LPM), tapioka (LPT) dan tepung beras (LPB) secara

berturut-turut adalah 3,525%, 5,232% dan 2,613%. Pada hari ke 15 kadar air meningkat, maizena (LPM), tapioka (LMT) dan tepung beras (LMB) secara berturut-turut adalah 8,139 %, 10,942 % dan 7,486 %.



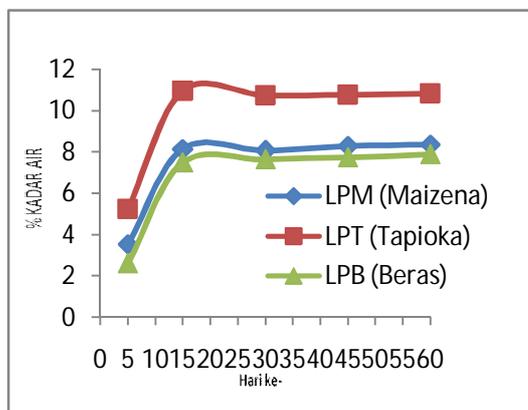
**Gambar 3.** Kadar air ragi selama masa penyimpanan (*Leuconostoc mesenteroides*)

Peningkatan kadar air dari ragi selama penyimpanan kemungkinan disebabkan oleh terjadinya proses penyerapan uap air dari atmosfer. Hal ini didukung oleh Winarno (1993) yang menyatakan bahwa kadar air pada permukaan bahan dipengaruhi oleh kelembaban nisbi (RH) udara sekitarnya. Bila kadar air bahan rendah, sedangkan RH disekitarnya tinggi maka akan terjadi penyerapan uap air dari udara sehingga kadar air bahan menjadi lebih tinggi. Kadar air ini konstan setelah penyimpanan ragi pada hari ke 30 sampai ke 60, hal ini dapat terlihat dalam grafik yang ada di atas.

Filler agent maizena (LMM), tapioka (LMT) dan tepung beras (LMB) secara berturut-turut adalah 8,369%, 8,504%, dan 6,646%,. Dan di hari penyimpanan selanjutnya kadar air tidak ada perubahan yang signifikan dan cenderung konstan.

Sama halnya pada ragi yang berisikan isolat *Leuconostoc mesenteroides*, peningkatan kadar air terjadi pada masa penyimpanan ragi. Persentase kadar air pada hari ke 5 pada ragi sangatlah kecil, dan meningkat drastis pada hari ke 15 penyimpanan. Pada hari ke 5 kadar air

pada ragi di maizena (LPM), tapioka (LPT) dan tepung beras (LPB) secara berturut-turut adalah 3,525%, 5,232% dan 2,613%. Pada hari ke 15 kadar air meningkat, maizena (LPM), tapioka (LMT) dan tepung beras (LMB) secara berturut-turut adalah 8,139 %, 10,942 % dan 7,486 %.



**Gambar 4.** Kadar air ragi selama masa penyimpana (*L. paramesentroides*)

Peningkatan kadar air dari ragi selama penyimpanan kemungkinan disebabkan oleh terjadinya proses penyerapan uap air dari atmosfer. Hal ini didukung oleh Winarno (1993) yang menyatakan bahwa kadar air pada permukaan bahan dipengaruhi oleh kelembaban nisbi (RH) udara sekitarnya. Bila kadar air bahan rendah, sedangkan RH disekitarnya tinggi maka akan terjadi penyerapan uap air dari udara sehingga kadar air bahan menjadi lebih tinggi. Kadar air ini konstan setelah penyimpanan ragi pada hari ke 30 sampai ke 60, hal ini dapat terlihat dalam grafik yang ada di atas.

Kadar air tertinggi terdapat pada tapioka di dibandingkan dengan tepung beras dan maizena, hal ini dikarenakan kadar amilopektin dan amilosa yang terdapat dalam tepung tapioka lebih tinggi di banding kedua tepung lainnya, yaitu sebesar 17,41% amilosa dan 82,13% amilopektin. Menurut Haris, 2001 tapioka termasuk kelompok hidrokoloid yang bersifat higroskopis.

Dari **Gambar 3** dan **4** tapioka memiliki kadar air yang tinggi, amilosa

yang tinggi yang terdapat dalam bahan *filler agent* dapat meningkatkan kadar air selama masa penyimpanan berlangsung. Amilosa yang terkandung di dalam tapioka lebih tinggi di banding kedua tepung yang dijadikan *filler agent*. Sehingga kemampuan menyerap air bahan lebih tinggi di banding kedua *filler agent* lainnya.

### Daya Fermentasi oleh Ragi

Fermentasi dapat didefinisikan sebagai perubahan secara bertahap oleh enzim beberapa bakteri, khamir dan jamur. Proses fermentasi biji kopi merupakan suatu proses penguraian senyawa-senyawa kompleks dalam biji kopi, menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan melibatkan beberapa mikroorganisme yang bertujuan untuk membantu melepaskan lapisan lendir yang masih menyelimuti biji kopi. Proses fermentasi ini terjadi pula pada biji kopi dalam sistem pencernaan binatang luwak, yang hasilnya disebut biji kopi luwak. Pada awal proses fermentasi, biji kopi yang matang memiliki kadar gula yang tinggi dan proses fermentasi dikondisikan secara anaerob atau sedikit  $O_2$ , sehingga merupakan kondisi yang cocok bagi pertumbuhan BAL.

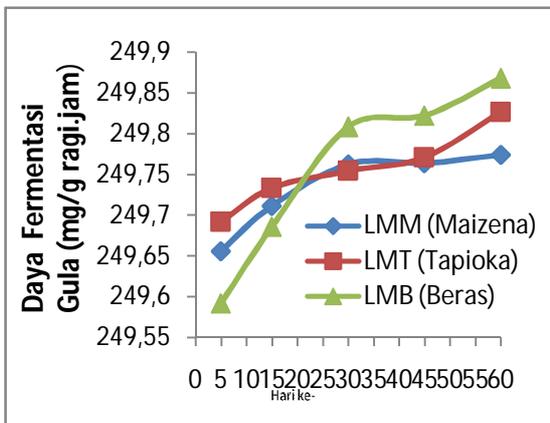
#### Fermentasi Glukosa

Pada penelitian ini ragi yang berisi kultur mikroba di gunakan untuk fermentasi glukosa 3%, difermentasi selama 12 jam dan diamati pH, sisa glukosa pada cairan fermentasi dan total asam yang dihasilkan pada proses fermentasi ragi terhadap glukosa tersebut.

Dari hasil penelitian terlihat bahwa gula terfermentasi semakin meningkat, namun peningkatan ini tidak begitu signifikan, **Gambar 5** dan **6** menunjukkan semakin lama penyimpanan maka semakin meningkat gula yang terfermentasi. Konsumsi glukosa yang tinggi oleh bakteri asam laktat ini menunjukkan kemampuan yang tinggi dalam memfermentasi glukosa. Konsumsi glukosa yang tinggi digunakan untuk sebagai nutrisi bagi pertumbuhan bakteri untuk menghasilkan produk metabolitnya.

Bakteri asam laktat homofermentatif menghasilkan produk metabolit asam laktat yang lebih banyak di banding bakteri asam laktat heterofermentatif, hal ini di karenakan glukosa yang diubah menjadi satu jenis produk saja yaitu asam laktat. Sedangkan bakteri asam laktat heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan senyawa asam organic lain dan karbondioksida (Fardiaz, 1992).

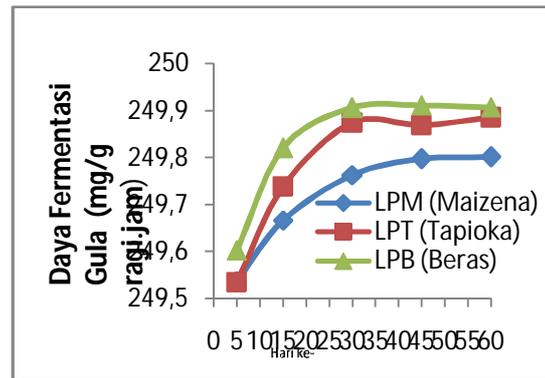
Pada **Gambar 5** dan **6**, terlihat bahwa daya fermentasi gula semakin meningkat selama masa penyimpanan 60 hari. *Filler agent* tepung beras (LMB) lebih tinggi di banding kedua *filler agent* lainnya yaitu tapioka (LMT) dan maizena (LMB). Jumlah sel mikroba pada saat penyimpanan semakin menurun, namun daya fermentasi gula semakin meningkat, hal ini di sebabkan karena pada masa penyimpanan sel bakteri yang terdapat pada ragi bersifat dorman, dan ketika bertemu dengan nutrisi untuk penunjang pertumbuhannya maka bakteri dapat tumbuh dan bermetabolisme.



**Gambar 5.** Fermentasi glukosa oleh ragi (*Leuconostoc mesenteroides*) dalam glukosa 3%

Karbohidrat merupakan substrat utama yang dipecah dalam proses fermentasi. Polisakarida terlebih dahulu akan dipecah menjadi gula-gula sederhana sebelum di fermentasi. Pada *Leuconostoc* pemecahan glukosa menjadi asam piruvat, asam asetat/etanol dan CO<sub>2</sub>, terjadi melalui jalur HMF. Jalur HMF (*Heksosamonofosfat*) digunakan untuk menghasilkan pentose yang di perlukan

untuk mensintesa asam nukleat, beberapa asam amino aromatic dan vitamin (Suwasono, 2008).



**Gambar 6.** Sisa glukosa cairan fermentasi ragi (*Leuconostoc paramesenteroides*) dalam glukosa 3%

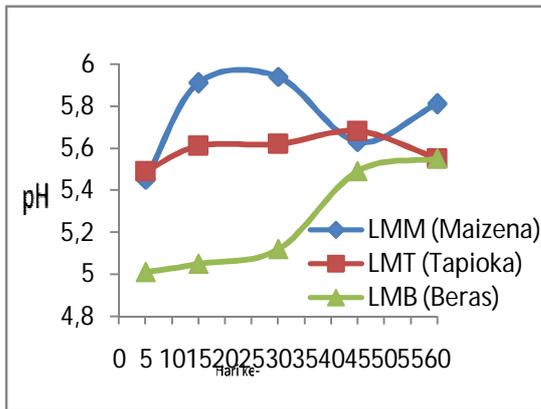
### pH dan Kemampuan Produksi Asam oleh Ragi

Pada penelitian ini ragi yang berisi kultur mikroba di fermentasikan dengan glukosa 3%, di fermentasi selama 12 jam dan diamati pH, sisa glukosa pada cairan fermentasi dan total asam yang dihasilkan pada proses fermentasi ragi terhadap glukosa tersebut.

Berdasarkan produk fermentasi yang dihasilkan menurut Salminen dan Wright 1998 dalam Aisa 2008, bakteri asam laktat digolongkan menjadi dua yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Kelompok BAL homofermentatif, produk utamanya <90% yang dihasilkan adalah asam laktat. Bakteri asam laktat yang termasuk dalam kelompok ini adalah *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus*. Sedangkan kelompok BAL heterofermentatif seperti *Leuconostoc*, akan memecah glukosa menghasilkan ± 50% asam laktat dan sisanya dapat berupa etanol, asam asetat, asetaldehid, diasetil, dan CO<sub>2</sub>. Untuk mengetahui kemampuan isolat dalam memproduksi asam laktat dan besarnya total asam yang dihasilkan serta besarnya pH asam maka dilakukan uji kemampuan memproduksi asam laktat yaitu dengan memfermentasi ragi yang di produksi menggunakan ragi yang berisi kultur BAL selama 12 jam. Hasil produksi total asam laktat dan besarnya pH dapat dilihat pada gambar 7 dan 8.

Bakteri pemecah gula ini bekerja 5 sampai 24 jam dalam proses fermentasi. Sebagai hasil proses pemecahan gula adalah sebagian besar asam laktat dan asetat. Dengan terbentuknya asam ini maka pH turun menjadi lebih kecil dari 5,0. Akan tetapi pada akhir fermentasi asam laktat ini dikonsumsi oleh bakteri sehingga terjadi kenaikan pH lagi.

Dalam penelitian ini pH di analisis menggunakan larutan gula 3% yang telah di fermentasi dengan ragi selama 12 jam. Untuk hari ke 5, menggunakan filler agent tepung maizena (LMM), tapioka (LMT) dan beras (LMB) secara berturut-turut adalah 5,45 , 5,49 dan 5,01. Pada hari ke 45 filler agent yang menggunakan tepung maizena (LMM) menurun menjadi 5,63, namun terjadi peningkatan kembali di akhir penyimpanan menjadi 5,81 (gambar 7)

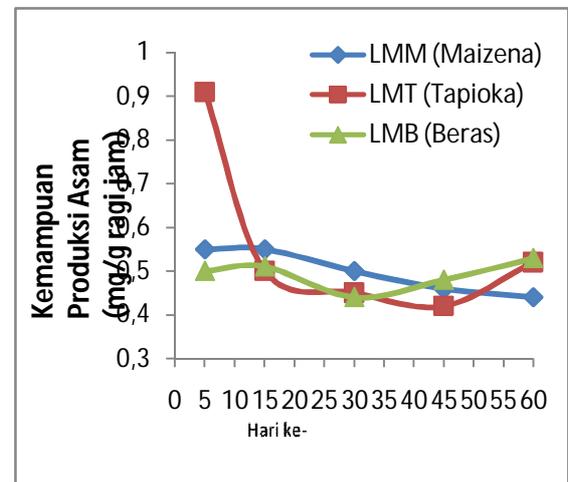


**Gambar 7.** pH Fermentasi ragi (*Leuconostoc mesenteroides*) dalam glukosa 3%

Pada hari ke 15, 30, 45 dan 60 pH fermentasi pada glukosa 3% meningkat, hal ini disebabkan karena tahap-tahap dari fermentasi karbohidrat belum terjadi secara sempurna sehingga asam laktat yang terbentuk karena aktivitas BAL juga belum sempurna, sehingga menjadikan pH yang dihasilkan masih di >5. Namun jika di lihat dari ketiga filler agent yang digunakan pH yang paling rendah ada pada tepung beras (LMB). Berkaitan dengan derajat keasaman yang dihasilkan, total asam laktat yang dihasilkan juga berkurang selama masa fermentasi ada beberapa juga yang naik dan tidak konstan.

**Gambar 8** menunjukkan besarnya total asam (jumlah asam laktat) selama

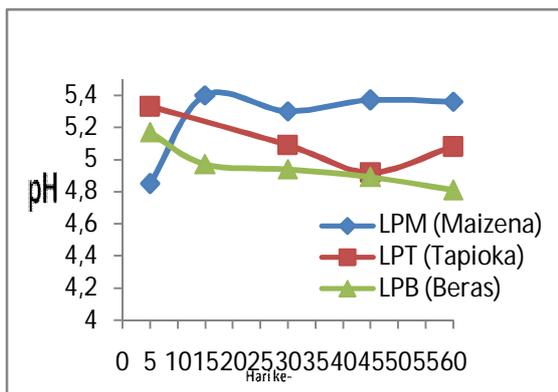
proses fermentasi. Pada semua filler agent yang digunakan, kadar asam laktat menunjukkan tren penurunan, dan pada beberapa masa mengalami kenaikan selama proses fermentasi pada beberapa hari penyimpanan ragi. Hal ini disebabkan karena glukosa yang terkandung dalam masing-masing filler agent berbeda dapat mempengaruhi asam laktat yang dihasilkan. Asam laktat yang dihasilkan oleh masing-masing ragi yang berbeda filler agent nya tidaklah sama, untuk hari ke 5, ragi yang menggunakan filler agent maizena (LMM),tapioka (LMT) dan beras (LMB) secara berturut-turut adalah 0,550492 mg/g.jam, 0,909081 mg/g .jam dan 0,500492 mg/g.jam.



**Gambar 8.** Total asam fermentasi ragi (*Leuconostoc mesenteroides*) dalam glukosa 3%

Terjadi tren penurunan dan kenaikan total asam laktat yang dihasilkan pada saat fermentasi dengan menggunakan ragi yang di simpan. Untuk *filler agent* yang menggunakan beras, mengalami kenaikan pada saat hari ke 45 dan 60 secara berturut adalah 0,480425 mg/g.jam dan 0,530475 mg/g.jam. Sedangkan *filler agent* yang lainnya menurun, hal ini di sebabkan karena glukosa yang terkandung di dalam tepung beras lebih tinggi di banding glukosa yang terkandung di kedua tepung lainnya, sehingga perombakan glukosa pada saat fermentasi oleh bakteri asam laktat akan mempengaruhi hasil akhir/jumlah asam laktat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan yang ditunjukkan pH pada **Gambar 7**.Christensen, dkk (1958)

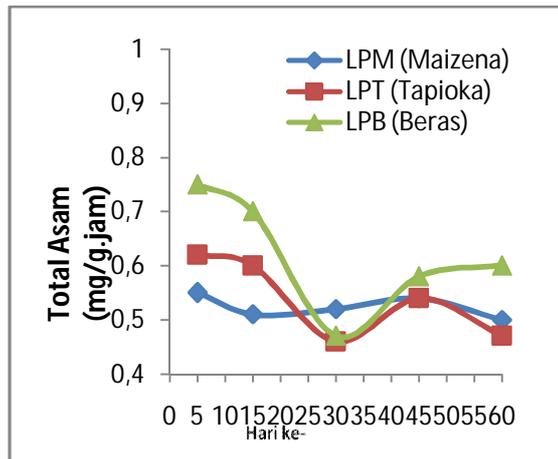
juga menyatakan selama fermentasi *L. mesenteroides* terjadi peningkatan jumlah asam asetat dan asam laktat yang dihasilkan, diikuti penurunan sumber karbon. Semakin tinggi jumlah sumber karbon dalam media maka jumlah asam asetat dan asam laktat yang dihasilkan akan semakin tinggi. kelompok BAL heterofermentatif seperti *Leuconostoc*, akan memecah glukosa menghasilkan  $\pm$  50% asam laktat dan sisanya dapat berupa etanol, asam asetat, asetaldehid, diasetil, dan CO<sub>2</sub>.



**Gambar 9.** pH Fermentasi Ragi (*Leuconostoc paramesenteroides*) dalam Glukosa 3%

**Gambar 9** menunjukkan pH yang terdapat pada fermentasi ragi yang berisi isolate bakteri *Leuconostoc paramesenteroides*, pH mengalami kenaikan. Pada saat hari ke 5, untuk filler agent yang menggunakan maizena (LPM),tapioka (LPT) dan beras (LPB) secara berturut-turut adalah 4,85, 5,33 dan 5,17. Pada hari ke 60 pH yang dihasilkan oleh fermentasi menggunakan filler beras (LPB) menurun menjadi 4,81, Berbeda dengan kedua filler agent yang digunakan, pH yang dihasilkan oleh keduanya meningkat menjadi >5. Bakteri pemecah gula ini bekerja 5 sampai 24 jam dalam proses fermentasi. Sebagai hasil proses pemecahan gula adalah sebagian besar asam laktat dan asetat. Dengan terbentuknya asam ini maka pH turun menjadi lebih kecil dari 5,0. pH fermentasi menggunakan ragi yang menggunakan filler agent tepung beras lebih asam (< 5) dari tepung yang lainnya, dalam Djumarti (2005) , bakteri pemecah gula ini bekerja 5

sampai 24 jam dalam proses fermentasi. Sebagai hasil proses pemecahan gula adalah sebagian besar asam laktat dan asetat. Dengan terbentuknya asam ini maka pH turun menjadi lebih kecil dari 5,0. Tepung beras (LPB) menghasilkan pH lebih kecil dari 5, oleh karena itu filler agent yang menggunakan tepung beras baik digunakan untuk pembuatan ragi.



**Gambar 10.** Total Asam Fermentasi Ragi (*Leuconostoc paramesenteroides*) dalam Glukosa 3%

**Gambar 10** menunjukkan besarnya total asam (jumlah asam laktat) selama proses fermentasi ragi dalam glukosa 3%. Metabolisme gula reduksi selama proses fermentasi menghasilkan asam laktat, asam asetat dan CO<sub>2</sub>. Asam laktat sebagai metabolit yang dihasilkan selama proses fermentasi mengalami penurunan.

Pada ragi yang menggunakan filler agent maizena (LPM), tapioka (LPT) dan beras (LPB) pada hari ke 5 secara berturut-turut adalah 0,550492 mg/g.jam, 0,62055 mg/g.jam dan 0,750667 mg/g.jam. Dan pada hari ke 60 total asam laktat yang dihasilkan berkurang dari penyimpanan awal, namun total asam yang dihasilkan oleh ragi yang menggunakan filler agent tepung beras (LPB) lebih tinggi di banding ke tiga filler agent yang di gunakan yaitu sebesar 0,600533 mg/g. Hal ini sesuai dengan yang ditunjukkan pH pada gambar 4.7. pH terlihat lebih asam di banding ke dua filler agent yang digunakan.

## KESIMPULAN

Filler Agent yang paling tepat untuk produksi ragi BAL *Leuconostoc mesenteroides* dan *Leuconostoc paramesenteroides* adalah Tepung Beras. populasi mikroba pada filler agent tepung beras masih sangat tinggi selama masa penyimpanan di banding kedua filler agent lainnya, yaitu maizena dan tapioka. Populasi *Leuconostoc mesenteroides* menggunakan tepung beras di akhir masa penyimpanan adalah  $2,2 \times 10^{10}$  CFU/g. Populasi *Leuconostoc paramesenteroides*  $8,6 \times 10^{10}$  CFU/g.

Kapasitas produksi total asam dan pH yang dihasilkan oleh ragi berkultur *Leuconostoc mesenteroides* pada fermentasi glukosa 3% di akhir penyimpanan 0,530475 mg/g ragi.jam dan pH 5,55. Dan pada ragi berkultur *Leuconostoc paramesenteroides* 0,600533 mg/g ragi.jam dan pH 4,81.

## DAFTAR PUSTAKA

- Djumarti (2005). *Teknologi Pengolahan Kopi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UNEJ.
- Fardiaz S (1989). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Fakultas Teknologi
- Fardiaz S (1992) *Mikrobiologi Pangan I*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Herman (2003) *Membangkitkan Kembali Peran Komoditas Kopi bagi Perekonomian Indonesia*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- James JS (1990) *Komoditi Kopi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Mulato S (1995) *Pengolahan Primer dan Sekunder Kopi*. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao. Jember.
- Najiyati dan Danarti. (1999). *Kopi, Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta: Penebar Swadaya. Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Siregar Irlenda. (2009). *Analisa Terhadap Jumlah Produksi Kopi dan Nilai Devisa Kopi di Indonesia pada tahun 1972-2008*. Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam. Universitas Sumatra Utara.
- Suwasono S dan Jayus . (2006). *Teknologi Fermentasi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP, UNEJ.
- Syarif R dan Irawati A (1986). *Pengetahuan Bahan Untuk Industri Pertanian*. PT. MEDIYATAMA SARANA PERKASA: Jakarta
- Winarno FG (1993) *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen*. Gramedia utama Pustaka : Jakarta.
- Winaryo (1999) *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.
- Yazid E dan Lisda N (2006). *Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analisis*. Penerbit Andi : Yogyakarta.