

PRODUKSI BIOLAKTAT KERING KULTUR CAMPURAN *Lactobacillus sp* DAN *Saccharomyces cereviceae*

Dried Mixed Culture of Lactobacillus sp and Saccharomyces cereviceae Production

Widya Dwi Rukmi Putri*, T. Dewanti Widyaningsih, dan D. W. Ningtyas

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fak. Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya
Jl. Veteran – Malang

Penulis korespondensi, email: wid2putri@yahoo.com

ABSTRACT

Recently, fermentation process of cereal and legume-based products has been developed. In the fermentation process, the availability of starter cultures is needed. Starter cultures that usually used to ferment cereal are Lactobacillus and yeasts. Generally, the starter cultures are used in liquid form and it needs to be periodically regenerated, that will lead to strain degeneration. To overcome the problem and to make the starter cultures easy to use, it can be made in dried form. In this research, we studied to increase biomass cells of dried cultures that affected by some factors. The aims of this research were to evaluate the suitable medium, growing methods, substrate:culture ratio, and incubation time to get the highest biomass cells of dried starter cultures. Starter culture in corn medium and the mixed culture method had the highest capability for growing. Whereas, substrate to culture ratio (94:6) and incubation time of 24 hours showed the best viability of these microorganism, and the best dried starter cultures with total BAL of 2.2×10^9 cfu/ml and total yeast of 3.0×10^8 cfu/ml. The best result on this treatment was stored at room and refrigeration temperatures for 4 weeks and the best stored proved on refrigeration which is can maintained viability of dried cultures.

Keywords: mixed culture, vacuum drying, dried culture

PENDAHULUAN

Proses fermentasi pada berbagai jenis produk pangan telah banyak dilakukan dengan berbagai tujuan yang berkaitan dengan kesehatan terutama fermentasi oleh bakteri asam laktat. Selama ini telah banyak penelitian dikembangkan yang berhubungan dengan fermentasi asam laktat pada produk olahan berbasis sereal yang diarahkan untuk bayi dan anak. Akan tetapi kenyataannya fermentasi alamiah yang banyak diaplikasikan karena mudah dan murah, padahal fermentasi secara alami memiliki banyak kelemahan dan memungkinkan pertumbuhan mikroorganisma patogen. Fermentasi

dengan kultur murni maupun campuran terbukti memiliki banyak keunggulan dan menutupi kekurangan fermentasi secara alami.

Kultur starter yang digunakan pada produk-produk fermentasi pada umumnya berbentuk cairan sehingga membutuhkan penanganan khusus yaitu harus dilakukan peremajaan atau penumbuhan kembali dalam medium segar dalam jangka waktu tertentu sehingga dapat dikatakan tidak efisien dan peremajaan yang berulang-ulang dapat mengakibatkan *strain degeneration* (Gililand, 1985), yaitu kultur menunjukkan penurunan dalam kemampuannya memecah substrat yang ada. Selain itu starter dalam bentuk cair

juga dapat mengalami kontaminasi selama penanganan sehingga akan berpengaruh terhadap kualitas produk yang dihasilkan. Alternatif pemecahan masalah dalam mengurangi kesulitan dalam persiapan dan penanganan starter adalah dengan menyediakan starter dalam bentuk serbuk kering.

Proses pengeringan pada produksi kultur starter kering merupakan tahapan proses yang sangat mempengaruhi viabilitas sel dan menentukan kemungkinan terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme yang tidak diinginkan seperti kapang (Speck dan Koburger, 1962; Hansen, 2002). Oleh sebab itu metode yang digunakan adalah dengan pengeringan dengan pengering semprot atau pengeringan beku (Wood, 1998 dalam Kulp and Ponte, 2000). Aplikasi peralatan tersebut tentu sulit dilakukan pada industri kecil menengah karena keterbatasan investasi. Salah satu metode pengeringan yang mungkin dilakukan adalah dengan pengeringan vakum (Putri, 2000; 2002), dan untuk mempertahankan viabilitas sel mikrob serta sekaligus menghambat mikrob kontaminan adalah dengan penambahan garam buffer seperti kalsium karbonat (Wood, 1998 dalam Kulp dan Ponte, 2000).

Jumlah sel pada pembuatan starter kering juga dipengaruhi oleh jenis media yang digunakan untuk menumbuhkan kultur sebelum pengeringan. Mossel *et. al* (1996) menyatakan organisme yang mampu tumbuh baik dengan cara menggunakan nutrien secara optimal dalam bahan pangan adalah mikroorganisme yang secara alami terdapat dalam bahan tersebut (*endogenous*). Faktor lain yang mempengaruhi jumlah sel adalah metode penumbuhan mikrob, beberapa mikrob tertentu dalam pertumbuhan optimumnya membutuhkan mikroorganisme lain (sinergis) atau sebaliknya dengan adanya mikroorganisme lain justru akan menghambat pertumbuhan mikrob tersebut (antagonistik). Oleh karena itu

perlu dikaji hubungan antara jenis media dan metode penumbuhan untuk mendapatkan kultur starter dengan jumlah sel yang tinggi.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan kultur campuran *L. plantarum*, *L. fermentum*, dan *S. cereviceae* karena merupakan mikroorganisme *endogenous* serealia. Perlakuan perbandingan substrat pertumbuhan pada pembuatan starter kering untuk menghasilkan starter kering dengan viabilitas sel yang tinggi belum pernah dilakukan. Penelitian mengenai pengaruh lama inkubasi dan rasio substrat:kultur terhadap viabilitas sel starter kering kultur campuran yang dikeringkan dengan metode pengering vakum penting dilakukan. Selain itu, pada penelitian ini juga dikaji viabilitas kultur starter kering selama penyimpanan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan adalah bakteri *Lactobacillus plantarum* strain FNCC 0027 dan *Lactobacillus fermentum* strain FNCC 0030 yang diperoleh dari PAU Pangan dan Gizi UGM, serta *Saccharomyces cereviceae* dari Laboratorium Mikrobiologi THP Universitas Brawijaya

Bahan yang digunakan untuk pembuatan starter kering adalah tepung beras varietas IR 64, tepung jagung varietas Arjuno, tepung singkong dan tapioka (pati singkong) dari varietas tumpang. Media yang digunakan adalah MRS Broth dan YPD Broth merek Oxoid, kertas payung, dan akuades.

Bahan kimia yang digunakan diantaranya adalah bahan untuk analisis total bakteri asam laktat (BAL) menggunakan MRS Agar merek Pronadisa, analisis total khamir dan total kapang dengan menggunakan PDA merk Pronadisa, asam tartarat 10%, serta alkohol 70% (pa). Penentuan kadar pati menggunakan akuades, eter, HCl 25%

(pa), NaOH 45% (pa). Bahan yang digunakan untuk analisis total gula adalah pereaksi anthrone, larutan glukosa standar. Analisis total N menggunakan tablet kjeldahl, HCl (pa), H₂SO₄ (pa), NaOH, indikator biru metilen, asam borat, dan lempeng Zn.

Penelitian ini dibagi menjadi empat tahapan sebagai berikut:

a. Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Satu ose *L. fermentum*, *L. plantarum* ditumbuhkan pada 10 ml MRS Broth dan *S. cereviceae* pada 10 ml YPD Broth kemudian diinkubasi suhu ruang (27±1°C). Setelah itu masing-masing bakteri asam laktat dimasukkan dalam MRSB dan *S. cereviceae* dalam YPDB 100 ml. Sampel awal diukur absorbansinya pada panjang gelombang 600 nm untuk *S. cereviceae* dan 570 nm untuk bakteri asam laktat sebagai penentuan kadar biomassa awal. Setiap interval 2 jam sekali diambil sampel dan diukur absorbansinya. Kurva pertumbuhan dibuat dengan menghubungkan antara waktu dan absorbansi. Pengukuran absorbansi dilakukan sampai sel mikrob mencapai tahap pertumbuhan optimum (akhir fase logaritmik).

b. Penentuan medium dan metode pertumbuhan yang menghasilkan viabilitas tertinggi

Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Faktor I adalah Metode penumbuhan kultur (F), yang terdiri dari: F1=metode penumbuhan kultur secara campuran dan F2=metode penumbuhan kultur secara terpisah. Faktor II adalah medium penumbuhan kultur (M), yang terdiri dari M1=tepung beras, M2=tepung jagung, M3=tepung singkong.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (Anova). Apabila analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata, maka

dilakukan uji lanjut dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dan uji perbandingan berganda Duncan (DMRT).

c. Penentuan perbandingan substrat:kultur cair dan waktu inkubasi yang paling optimum

Satu ose *Lactobacillus fermentum* dan *L. plantarum* ditumbuhkan pada 10 ml medium MRS Broth dan *Saccharomyces cereviceae* ditumbuhkan pada 10 ml medium YPD Broth, kemudian diinkubasi pada suhu ruang (27°C) selama 24 jam. Kultur tersebut ditumbuhkan pada 3 g tepung jagung yang masing-masing telah dicampur dengan 97 ml akuades dan telah disterilisasi lebih dahulu. Penumbuhan kultur pada substrat sesuai dengan perlakuan yang bertujuan untuk memperbanyak kultur dan sebagai tahapan fase adaptasi kultur terhadap medium fermentasi tepung jagung dan diinkubasi pada suhu ruang (27°C) dengan waktu sesuai dengan perlakuan. Bahan pengisi ditambahkan untuk mempertahankan aktivitas starter kultur campuran selama pengeringan. Kultur yang telah ditambah bahan pengisi dikeringkan menggunakan *vacuum drying* pada suhu 45°C selama 2 jam.

d. Penyimpanan kultur kering perlakuan terbaik pada suhu rendah dan suhu kamar

Starter kering dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama disimpan pada suhu ruang 27±1°C, dan bagian kedua disimpan pada suhu rendah (*refrigerator*) 10±1°C. Setiap minggu masing-masing bagian diuji viabilitasnya dengan menghitung jumlah sel/ml menggunakan metode hitungan cawan. Penyimpanan dilakukan selama satu bulan.

Analisis medium pertumbuhan meliputi Total N metode makro-kjeldahl (Anonymous, 1990), total gula metode *anthrone* (Apriyantono, dkk., 1989), Kadar pati metode *Direct Acid Hydrolysis* (dalam Sudarmadji dkk, 1997). Analisis kultur sebelum pengeringan meliputi analisis total BAL dan khamir

menggunakan metode hitungan cawan (Fardiaz, 1992). Analisis kultur setelah pengeringan dan selama penyimpanan meliputi total BAL, khamir, dan kapang menggunakan metode hitungan cawan (Fardiaz, 1992).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Bahan Baku Medium Pertumbuhan

Pada penelitian ini bahan baku yang digunakan sebagai medium pertumbuhan adalah larutan tepung jagung, singkong dan beras karena mikrob yang digunakan adalah *L. plantarum*, *L. fermentum* dan *S. cereviceae* merupakan mikrob endogen pada proses fermentasi dari ketiga jenis bahan tersebut. Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan Nguyen *et. al.*, (2005) yang telah mengisolasi sejumlah bakteri dari bahan pangan yang terfermentasi yaitu beras dan jagung, dan menemukan bahwa bakteri yang mendominasi proses fermentasi tersebut adalah spesies *L. plantarum*, *L. fermentum* dan sebagian khamir. Selain itu Olasupo *et. al.*, (1995) berhasil mengidentifikasi mikrob yang terdapat pada umbi singkong terfermentasi yaitu bakteri asam laktat spesies *L. plantarum*. Hasil analisis bahan baku medium pertumbuhan yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis medium penumbuhan kultur starter

Jenis Bahan	Total Gula (%)	Total N (%)	Kadar Pati (%)
Tepung jagung	0,516	0,096	1,776
Tepung beras	0,461	0,133	1,749
Tepung singkong	0,441	0,082	1,583

Analisis Mikrobiologi Kultur Starter pada Jenis Medium dan Metode Penumbuhan Substrat yang Berbeda

Rerata total BAL pada kultur starter sebelum pengeringan akibat perlakuan jenis medium dan metode penumbuhan kultur yang berbeda berkisar antara $3,4 \times 10^7$ – $6,1 \times 10^9$ cfu/ml.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa rerata total BAL tertinggi terdapat pada kultur yang ditumbuhkan pada tepung jagung dan terendah pada tepung singkong. Hal tersebut terkait dengan ketersediaan nutrisi yang berbeda dari tiap medium yang digunakan, walaupun secara jumlah relatif sama (Tabel 1). Semakin sederhana komponen nutrisi dalam medium tersebut, maka akan semakin mudah digunakan oleh bakteri. Diduga unsur/komponen nutrisi pada medium tepung jagung terdapat dalam bentuk sederhana sehingga mudah dimanfaatkan oleh bakteri.

Tabel 2. Rerata total BAL dan *S. cereviceae* akibat perlakuan jenis medium penumbuhan kultur starter

Jenis medium	Rerata total BAL ^a (log cfu/ml)	Rerata total <i>S. cereviceae</i> ^b (log cfu/ml)
Tepung Singkong	23,955 a	22,639 a
Tepung Beras	24,726 b	25,221 b
Tepung Jagung	27,676 c	26,174 c

Keterangan

- angka yang didampingi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha=0.05$)
- a=pada BNT (5%) 0,5096; b=BNT (5%) 0,5178

Rerata total *S. cereviceae* pada starter yang dihasilkan berkisar antara $2,8 \times 10^7$ – $9,9 \times 10^8$ cfu/ml. Pada Tabel 3 terlihat bahwa rerata total *S. cereviceae* tertinggi terdapat pada kultur yang ditumbuhkan pada tepung jagung dan terendah pada tepung singkong. Hal tersebut diduga kandungan nutrisi dalam medium tepung jagung mampu menyokong pertumbuhan khamir dibandingkan medium beras dan singkong. Pertumbuhan *S. cereviceae* memerlukan sumber energi utama yakni sumber karbon yang berupa gula-gula sederhana dan sumber nitrogen.

Pada Tabel 3 terlihat bahwa rerata total BAL dan *S. cereviceae* tertinggi terdapat pada kultur yang ditumbuhkan secara campuran. Hal tersebut dimungkinkan karena adanya hubungan sinergis antara khamir dengan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (*L.*

plantarum dan *L. fermentum*) memiliki kemampuan dalam memecah komponen kompleks menjadi komponen lebih sederhana yakni gula. Gula tersebut dapat dimanfaatkan oleh *S. cereviceae* sebagai sumber energi, karena dalam pertumbuhannya khamir lebih menyukai gula sederhana daripada komponen kompleks seperti pati. Selain itu, bakteri asam laktat, menciptakan kondisi asam (menurunkan pH) pada medium fermentasi. Khamir lebih menyukai kondisi asam dibandingkan kondisi basa (alkali) (Bennett *et. al.*, 1999).

Tabel 3. Rerata total BAL dan *S. cereviceae* akibat perlakuan metode penumbuhan kultur starter

Metode Pertumbuhan Kultur	Rerata total BAL ^a (log cfu/ml)	Rerata total <i>S. cereviceae</i> ^b (log cfu/ml)
Campuran	26,773 b	25,176 b
Terpisah	24,131 a	24,179 a

Keterangan:

- angka yang didampingi huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($\alpha=0.05$)
- a=pada BNT (5%) 0,5096; b=BNT (5%) 0,5178

Keberadaan khamir bagi BAL menguntungkan berkaitan dengan metabolit yang dihasilkan oleh khamir *S. cereviceae* yakni senyawa organik (etanol) dan CO₂. senyawa organik dan CO₂ dapat meminimumkan terbentuknya senyawa H₂O₂. CO₂ akan menyeimbangkan kadar oksigen dalam medium, dan adanya senyawa organik (etanol) yang terbentuk mampu memecah H₂O₂ yang bersifat racun menjadi senyawa yang tidak beracun dengan bantuan peroksidase. Oleh karena itu, khamir yang menghasilkan CO₂ akan dapat menyeimbangkan kadar oksigen dalam medium. Pernyataan tersebut didukung oleh Gililand (1985) yang menyatakan bahwa dalam proses pertumbuhan sel mikrob kelebihan oksigen dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel, karena oksigen yang berlebih akan membentuk hidrogen peroksida yang bersifat racun terhadap sel. Kelebihan oksigen tersebut dapat

diatasi dengan menambahkan CO₂ pada medium, sehingga konsentrasi oksigen dalam medium seimbang.

Selain itu, khamir memiliki kemampuan dalam mensintesis vitamin, salah satunya adalah riboflavin (vit B₁₂), sesuai dengan pernyataan Fardiaz (1992) bahwa bir yang terbuat dari maizena mempunyai kandungan riboflavin dua kali lebih banyak daripada jagung aslinya. *Lactobacillus* dalam pertumbuhannya membutuhkan beberapa vitamin termasuk vitamin B₁₂. Oleh sebab itu adanya khamir dapat mendukung pertumbuhan *Lactobacillus* karena tercukupinya komponen mikronutrien seperti vitamin B₁₂.

Karakteristik Kultur Starter Sebelum dan Sesudah Inkubasi dengan Rasio Substrat:Kultur dan Lama Inkubasi yang Berbeda

Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa perlakuan rasio substrat:kultur (94:6) dengan lama inkubasi 24 jam menghasilkan jumlah *Lactobacillus* dan total *S. cereviceae* tertinggi yang berarti perlakuan ini menghasilkan kondisi pertumbuhan optimum. Semakin lama inkubasi maka terjadi peningkatan jumlah sel mikrob sehingga aktivitas mikrob semakin meningkat. Lama inkubasi 24 jam memberikan kesempatan bagi mikrob untuk mempergunakan nutrisi yang ada dalam bahan karena pada jam ke-24 mikrob mencapai fase pertumbuhan logaritmik yang pada fase ini sel mikrob membelah dengan cepat, konstan, dan membutuhkan energi yang lebih banyak daripada fase lainnya. Pada fase logaritmik ini mikrob dapat tumbuh dengan baik karena adanya nutrisi yang mencukupi selama inkubasi.

Penambahan substrat 94% ini dianggap mampu memenuhi kebutuhan nutrisi mikrob karena pada konsentrasi ini mikrob tumbuh optimum dibandingkan dengan perlakuan rasio perbandingan substrat yang lainnya. Tingginya jumlah sel *Lactobacillus* dan *S. cereviceae* sesudah inkubasi juga diduga karena

adanya hubungan sinergis antara *Lactobacillus* dan *S. cereviceae*.

Pada awal proses inkubasi *Lactobacillus* memecah pati menjadi gula sederhana, yang kemudian digunakan oleh khamir karena dalam pertumbuhannya khamir lebih menyukai gula-gula sederhana daripada dalam bentuk kompleks (pati). Selain itu dengan adanya bakteri asam laktat dalam proses fermentasi yang mampu menghasilkan asam laktat sehingga dapat menciptakan kondisi asam pada medium fermentasi.

Dengan turunnya pH, diduga khamir mampu tumbuh lebih baik. Pernyataan diatas didukung oleh Bennett *et. al*, (1999) menyatakan bahwa khamir umumnya lebih menyukai kondisi asam untuk pertumbuhannya dan tidak tumbuh baik pada medium alkali. Gloria *et. al* (2003) juga melaporkan bahwa dengan menurunnya pH dan meningkatnya keasaman pada fermentasi spontan sereal (kombinasi antara *Lactobacillus* dan *S. cereviceae*) maka jumlah khamir meningkatkan.

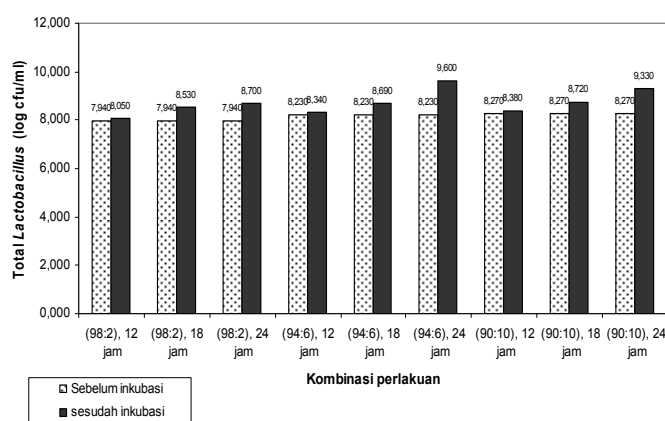
Karakteristik Kultur Starter Kering Total BAL dan Total Khamir

Pada Gambar 3 terlihat bahwa total BAL paling tinggi terdapat pada

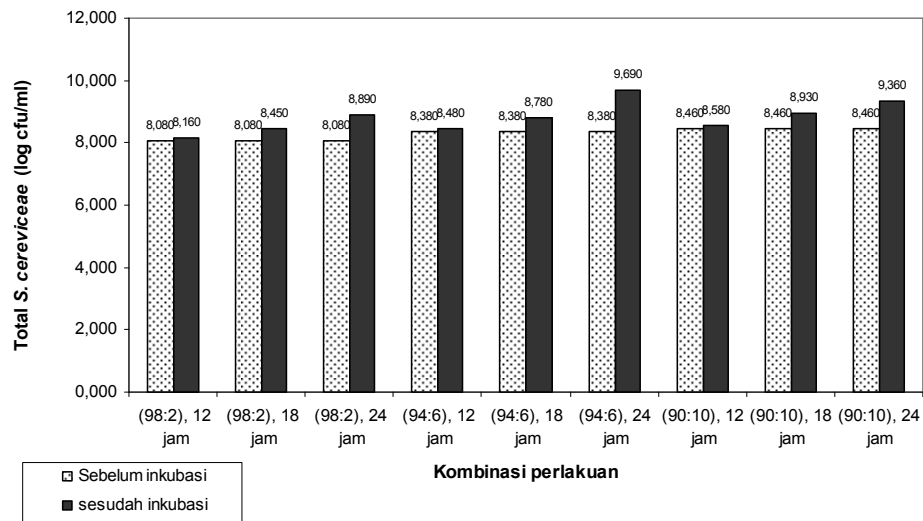
perlakuan kultur yang ditumbuhkan pada medium dengan rasio substrat:kultur 94:6 dan lama inkubasi 24 jam yakni sebesar $2,2 \times 10^9$ cfu/g. Dari Gambar 4 juga terlihat bahwa total khamir sesudah pengeringan menurun. Akan tetapi penurunan yang terjadi tidak signifikan dan jumlahnya tetap dalam kisaran 10^7 – 10^9 cfu/g.

Dari gambar tersebut juga dapat dilihat bahwa jumlah BAL dan *S. cereviceae* menurun yang disebabkan karena adanya proses pengeringan tetapi jumlah sel pada kultur kering ini masih tinggi. Hal ini diduga karena bahan pengisi dan kalsium karbonat (sebagai protektan) yang ditambahkan mampu melindungi mikrob secara optimum dari kerusakan sel akibat proses pengeringan.

Sebagai bahan pengisi, karbohidrat dari tepung beras dan tepung jagung akan mengikat air karena memiliki kemampuan sebagai bahan pengikat dan bahan pembawa. Pada saat proses pengikatan air sekaligus terjadi pengikatan mikrob yang komponen utama mediumnya adalah air. Mosilhey (2003) juga menyatakan bahwa material enkapsulan yang berbeda menyebabkan retensi bahan isian yang juga berbeda.



Gambar 1. Grafik total BAL sebelum dan sesudah inkubasi akibat pengaruh rasio substrat:kultur dan lama inkubasi



Gambar 2. Grafik total *S. cereviceae* sebelum dan sesudah inkubasi akibat pengaruh rasio substrat:kultur dan lama inkubasi

Selain bahan pengisi, protektan juga berpengaruh terhadap ketahanan viabilitas sel akibat proses pengeringan. Sukrosa mempunyai berat molekul yang besar sehingga memungkinkan bagi sukrosa untuk melapisi membran sel dari luar. Akibatnya selain sebagai penyedia energi, sukrosa juga dapat berperan sebagai bahan protektan ekstraseluler.

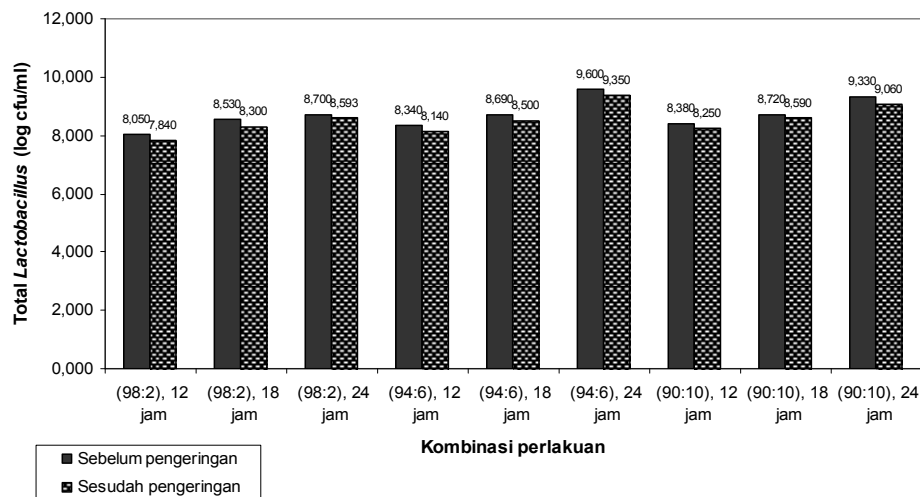
Kalsium karbonat mampu menurunkan aktivitas air sehingga meningkatkan ketahanan panas sel. Sedangkan gliserol mampu berdifusi ke dalam sel dan dapat di metabolisme dalam proses yang menghasilkan energi dan membentuk fruktosa. Fruktosa berperan sebagai penyedia zat-zat makanan untuk sumber energi mikroorganisme (Toelihere, 1985). Gliserol merupakan protektan yang bersifat penetrasi dengan prinsip kerjanya berdasarkan sifat koligatifnya yaitu mereduksi dalam bentuk garam.

Penelitian dari Corcoran *et al* (2006) menunjukkan bahwa pengeringan kultur *L. paracasei* menggunakan pengering beku mampu mempertahankan viabilitas sel sebesar 3×10^9 – $3,5 \times 10^9$ cfu/g, sedangkan Eldawi *et al.*, (2003)

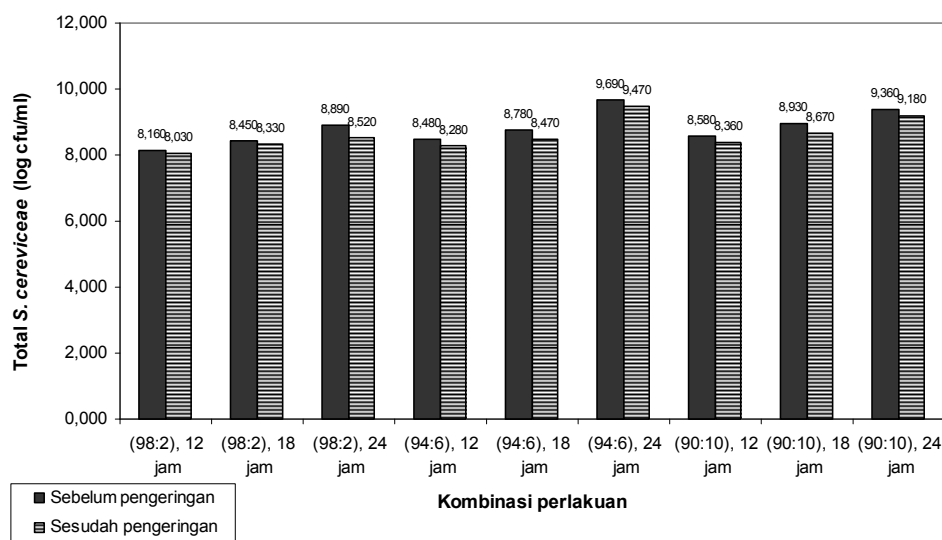
telah melakukan pengeringan *L. acidophilus* dengan menggunakan pengering beku dan bahan penyalut susu skim. Total bakteri asam laktat sebesar 5×10^9 sebelum pengeringan dan $5,4 \times 10^7$ cfu/ml setelah pengeringan. Desmond *et al.* (2002) juga menyatakan bahwa *Lactobacillus paracasei* NCFB 338 lebih tahan pada pengeringan semprot dengan adanya gum akasia. Hal ini menunjukkan bahwa kultur kering yang dihasilkan pada penelitian ini yang menggunakan pengering vakum juga mampu menghasilkan viabilitas kultur kering yang tinggi.

Total Kapang

Kapang pada starter kering ini pada dasarnya adalah kontaminan yang tidak dikehendaki. Pada starter kering kultur campuran *Lactobacillus* dan *Saccharomyces cereviceae* tidak ada kapang yang tumbuh. Hal ini diduga karena *Lactobacillus* mampu menunjukkan aktivitas anti jamur di adonan asam dengan menghasilkan PLA (*Phenyllic Acid*). Sekitar 7,5 mg PLA/ml mampu menghambat pertumbuhan jamur sebesar 90% (Lavermicocca *et al.*, 2002).



Gambar 3. Grafik total BAL sebelum dan sesudah pengeringan



Gambar 4. Grafik total *Saccharomyces cereviceae* sebelum dan sesudah pengeringan

Kemampuan *Lactobacillus* menghasilkan PLA (*Phenylactic Acid*) merupakan salah satu sumber antimikrobia alami untuk menghambat pertumbuhan kapang kontaminan dan meningkatkan masa simpan. Onilude *et. al.* (2005) menyatakan *L. fermentum* yang diisolasi dari berbagai jenis fermentasi sereal memiliki aktivitas antikapang terhadap jenis *Aspergillus*.

Kadar Air Starter Kering

Nilai kadar air yang paling tinggi dan beda sangat nyata terdapat pada

penggunaan medium tepung dengan rasio substrat:kultur (90:10) dengan lama inkubasi 24 jam. Hal ini disebabkan pada substrat 90% sebagian besar komposisi medium adalah air dan selama inkubasi 24 jam terjadi aktivitas perombakan gula oleh mikrob menjadi asam-asam organik. Gula dapat mengikat air secara kimiawi dan pada saat gula dipecah menjadi asam organik maka jumlah air bebas akan meningkat sehingga kadar air meningkat.

Daya Kelarutan Starter Kering

Seperti halnya kadar air, kelarutan juga merupakan salah satu karakteristik

penting yang menentukan mutu dari starter kering yang dihasilkan jika ingin diaplikasikan pada produk pangan yang berbentuk cair, tetapi aplikasi dari kultur kering ini juga tidak hanya terbatas pada produk cair saja.

Daya larut starter kering berkisar antara 42,16–62,45%. Tingkat kelarutan yang paling besar dan beda nyata terdapat pada penggunaan medium tepung dengan rasio substrat:kultur (90:10) dan lama inkubasi 24 jam. Hal ini diduga karena substrat yang digunakan adalah 90% sehingga pati yang terkandung dalam substrat lebih sedikit jika dibanding dengan rasio substrat yang lain. Selain itu, selama inkubasi 24 jam aktivitas pemecahan pati oleh mikrob semakin besar sehingga terjadi penurunan pati karena pati dirombak menjadi limit dekstrin, maltosa, dan glukosa sehingga meningkatkan kelarutannya. Sifat dari pati adalah tidak larut dalam air dingin (Gaman and Sherrington, 1994).

Perlakuan Terbaik Kultur Starter Kering

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa perlakuan terbaik untuk kultur starter kering *Lactobacillus* dan *Saccharomyces cereviceae* diperoleh pada penggunaan medium tepung dengan rasio substrat:kultur 94:6 dan lama inkubasi 24 jam. Perlakuan terbaik untuk pembuatan starter kering kultur campuran *Lactobacillus* dan *Saccharomyces cereviceae* adalah perlakuan yang memiliki viabilitas *Lactobacillus* sebesar $2,2 \times 10^9$ cfu/g, total *S. cereviceae* sebesar $3,0 \times 10^9$, kadar air sebesar 8,03%, dan kelarutan sebesar 60,76%.

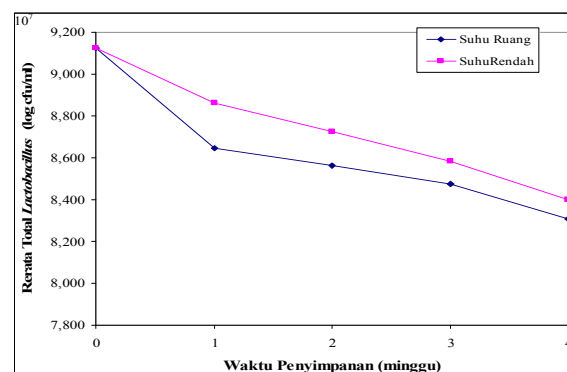
Uji Viabilitas Starter Kering Terbaik selama Penyimpanan Suhu Ruang dan Suhu Rendah (*Refrigerator*)

Starter kering hasil perlakuan terbaik diuji viabilitasnya selama penyimpanan 4 minggu pada kondisi yang berbeda yaitu suhu rendah (*refrigerator*) dan suhu ruang.

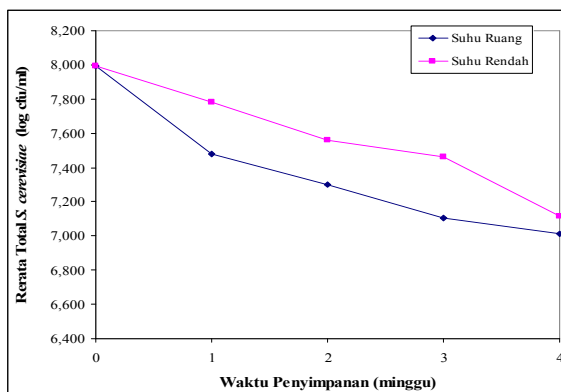
Salah satu hal penting dalam proses pengeringan kultur starter adalah kemampuannya bertahan selama penyimpanan. Pada proses pengeringan, hal penting dalam mempertahankan viabilitas sel adalah jenis bahan penyalut dan kondisi penyimpanan.

Dari Gambar 5 dan 6 terlihat bahwa baik total BAL dan total *S. cereviceae* mengalami penurunan selama penyimpanan, baik pada suhu ruang maupun suhu rendah. Penurunan total BAL setelah penyimpanan 4 minggu terjadi pada starter kering yang disimpan pada suhu rendah yaitu sebesar $2,0 \times 10^8$ cfu/ml dan pada suhu ruang sebesar $1,7 \times 10^8$ cfu/ml. Penurunan *S. cereviceae* setelah penyimpanan 4 minggu terjadi pada starter kering yang disimpan pada suhu rendah yaitu sebesar $1,3 \times 10^7$ cfu/ml dan pada suhu ruang sebesar $1,0 \times 10^7$ cfu/ml.

Penurunan total BAL dan *S. cereviceae* lebih besar pada penyimpanan suhu ruang dibanding suhu rendah. Suhu merupakan faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan sel. Pada penyimpanan suhu ruang laju pertumbuhan baik *Lactobacillus* maupun *S. cereviceae* lebih besar daripada penyimpanan pada suhu rendah sehingga fase kematian sel pun lebih cepat dicapai pada starter kering yang disimpan pada suhu ruang.



Gambar 5. Grafik rerata viabilitas total BAL pada starter kering perlakuan terbaik selama penyimpanan suhu ruang dan suhu rendah



Gambar 6. Grafik rerata viabilitas total *S. cereviceae* pada starter kering perlakuan terbaik selama penyimpanan suhu ruang dan suhu rendah

Hal yang sama juga ditunjukkan pada penelitian Wang *et al.* (2004), yang meneliti kultur kering probiotik *S. thermophilus* dan *L. acidophilus* menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu 4°C menghasilkan viabilitas kultur yang lebih baik.

Selain itu, penurunan total BAL dan *S. cereviceae* selama penyimpanan tersebut diduga disebabkan kondisi lingkungan yang kurang mendukung pertumbuhan. Setelah pengeringan, kandungan air bahan menurun padahal mikrob dalam pertumbuhannya membutuhkan air (air bebas) sebagai reaktan dalam berbagai reaksi biokimia. Selama penyimpanan seluruh reaksi biokimia serta enzimatis sel *Lactobacillus* dan *S. cereviceae* tetap berlangsung meskipun lambat. Kondisi yang terbatas tersebut menyebabkan aktivitasnya mikrob baik *Lactobacillus* maupun *S. cereviceae* akan menurun, hingga pada akhirnya sel mengalami kematian.

Penelitian dari Selorm *et al.* (2002) yang menggunakan bahan protektan seperti skim, sukrosa, dan gliserol selain bahan pengisi pati, menunjukkan bahwa starter kering dapat dipertahankan viabilitasnya hingga 3–4 bulan. Hasil penelitian Carvalho *et al.* (2002) menunjukkan bahwa penurunan sel *L. rhamnosus* GG dalam bentuk bubuk selama penyimpanan hal tersebut diakibatkan kerusakan membran sel

meskipun dilindungi oleh susu skim. Pada starter kering ini tidak ditemukan adanya kontaminan kapang baik setelah pengeringan maupun selama penyimpanan selama 4 minggu.

KESIMPULAN

Metode serta penggunaan medium pertumbuhan kultur berpengaruh nyata terhadap jumlah sel bakteri asam laktat (BAL) dan *S. cereviceae*. Jumlah sel BAL dan *S. cereviceae* pada metode pertumbuhan kultur secara campuran lebih tinggi pada pertumbuhan kultur yang dilakukan secara terpisah. Selain itu total BAL dan *S. cereviceae* tertinggi didapatkan pada kultur yang ditumbuhkan pada medium tepung jagung dengan menggunakan metode penumbuhan kultur secara campuran. Hasil perlakuan terbaik memiliki total BAL sebesar $6,1 \times 10^9$ cfu/ml dan total *S. cereviceae* sebesar $9,9 \times 10^8$ cfu/ml.

Perlakuan terbaik berdasarkan berbagai parameter starter kering meliputi total BAL, total *Saccharomyces cereviceae*, kadar air, dan daya kelarutan starter kering, adalah dengan menggunakan medium tepung dengan rasio substrat:kultur 94:6 dan lama inkubasi 24 jam dengan karakteristik yaitu memiliki total BAL sebesar $2,2 \times 10^9$ cfu/g, total *S. cereviceae* sebesar $3,0 \times 10^9$ cfu/g, kadar air sebesar 8,03%, dan kelarutan sebesar 60,76%.

Starter kering yang dihasilkan juga memiliki ketahanan simpan yang cukup tinggi pada suhu rendah selama 4 minggu, tanpa mengalami penurunan viabilitas yang signifikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan pada:

1. Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini.
2. Lembaga Penelitian Universitas Brawijaya yang telah membantu

pengurusan administrasi pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, Sedarnawati, dan S. Budiyantono. 1989. Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB, Bogor
- Anonymous. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Agriculture Chemist, Washington DC
- Bennett, A., R. I. Rowe, N. Soch, and C. D. Eckhart. 1999. Boron Stimulates Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Growth. Department of Environmental Health Sciences, University of California, Los Angeles
- Carvalho, J.S., P. Ho, Teixeira, Malcata, F. Xavier, and G. Paul. 2002. Survival of freeze-dried *Lactobacillus plantarum* and *L. Rhamnosus* during storage in the presence of protectant. Biotechnology Letter Journal 24(19)
- Corcoran, B.M., R.P. Ros, and G.F. Fitzgerald. 2006. Enhanced survival of GroESL-overproducing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 under stressful conditions induced by drying. Applied and Environmental Microbiology: 5104-5107
- Desmond, C., R. P. Ross, E. O'Callaghan, G. Fitzgerald, and C. Stanton. 2002. Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in spray-dried powders containing gum acacia. Journal of Applied Microbiology 93:1003-1011
- Eldawi-Sever, N., L.A. Goentoro, and J. J. De Pablo. 2003. Effects of annealing on freeze dried *Lactobacillus acidophilus*. J of Food Science 68(8): 2504-2511
- Fardiaz, S. 1992. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Gaman, P. M. and K. B. Sherington. 1994. Food Science. Mc Graw Hill Book Co., New York
- Gilliland, S. E. 1985. Bacterial Starter Cultures for Food. CRC Press Inc., Florida
- Gloria, D.R., J.P. Guyot, T.F. Ruiz, Morlon-Juliette, and C. Wachter. 2003. Amylolytic lactic acid bacteria from *pozol*: a natural potential to produce complementary foods. Food-Based Approaches for a Healthy Nutrition Journal 411-418
- Hansen, E. B. 2002. Commercial bacterial starter cultures for fermented food of the future. Int. Journal Food Microbiol: 78(1-2): 119-131
- Mosilhey, S. H. 2003. Influence of different capsule materials on the physiological properties of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. <http://www.academicjournals.org/ajb/PDF/Pdf2005/Dec/Onilude%20et%20al.pdf>
- Mossel, D. A. A., J. E. L. Corry, C. B. Struik, and R. M. Baird. 1996. Essentials of the microbiology of foods: a textbook for advanced studies. John Wiley and Sons, Chichester, England
- Nguyen, T. T., L. Thuy, I. V. C. Gerard, Christelle, R. Isabelle, T. C. Serge, and J-P. Guyot. 2005. Effect of fermentation by amylolytic lactic acid bacteria, in process combinations, on characteristics of rice/soybean slurries: A new method for preparing high energy density complementary foods for young children. Food Chemistry 100: 623-631
- Olasupo N. A., D. K. Olukoya, and S. A. Odunfa. 1995. Studies on bacteriocinogenic *Lactobacillus* isolates from selected African fermented foods. Journal of Basic Microbiology 35: 319 - 324
- Onilude A. A., O. E. Fagade, M. M. Bello, and I. F. Fadahunsi. 2005. Inhibition of aflatoxin-producing *aspergilli* by lactic acid bacteria isolates from indigenously fermented cereal gruels. African Journal of Biotechnology 4(12): 1404-1408
- Putri, W. D. R., E. Zubaidah, dan M. Maria. 2000. Produksi starter

- kering kultur campuran bakteri asam laktat dan *Saccharomyces cereviceae*. Jurnal Teknologi Pertanian
- Putri, W. D. R, S. S. Yuwono, dan K. P. Kurniawan. 2002. Aplikasi Kultur Starter Kering *L. bulgaricus* dan *S. cereviceae* pada Pembuatan Sereal Instan Berbasis Tepung Beras dan Tepung Kedelai Rendah Lemak. Laporan Penelitian Dana Hibah Penelitian DUE-Like. PS Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya
- Selorm, W., E. Sakyi-Dawson, and W.K. Amoa-Awua. 2002. Production and preservation of starter cultures for maize fermentation using simple technologies and locally available materials in Ghana. Accra
- Speck, M.L and J.A. Koburger. 1962. Activation of dry starter cultures in milk. Appl Environ. Microbiol. 10(6): 496-499
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta
- Toelihere, M.R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Edisi 10. Penerbit Angkasa, Bandung
- Wang, Y-C, R-C. Yu, and C.C. Chou. 2004. Viability of lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. Int. Journal of Food Microbiology 92:209-217