

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DAN
PEMANFAATANNYA PADA FERMENTASI PATI SAGU**

HAPSARI DEWI



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul Isolasi Bakteri Asam Laktat serta Pemanfaatannya pada Fermentasi Pati Sagu adalah benar karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2014

Hapsari Dewi
NIM G34090069

ABSTRAK

HAPSARI DEWI. Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Pemanfaatannya pada Fermentasi Pati Sagu. Dibimbing oleh ANJA MERYANDINI dan TITI CANDRA SUNARTI.

Pati sagu (*Metroxylon* sp.) umumnya dihasilkan dari industri rumah tangga yang sering sekali tidak menerapkan cara produksi makanan yang baik. Kontaminasi mikroorganisme pada proses ekstraksi dapat terjadi akibat penggunaan air untuk pengolahan yang tercemar dengan mikroorganisme patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (BAL) dari limbah industri sagu sebagai starter untuk fermentasi pati sagu sehingga dapat meningkatkan keamanan produk pati sagu yang dihasilkan. Penambahan BAL diberikan pada cairan perendaman hingga konsentrasi 10^6 CFU/ml, dan pengamatan dilakukan hingga 10 hari fermentasi. Rancangan percobaan yang digunakan adalah acak lengkap dengan pengamatan berulang. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan penambahan starter tidak berpengaruh signifikan terhadap *total soluble carbohydrate* (TSC) dari cairan fermentasi dan populasi mikroorganisme, baik pada cairan maupun pada fermentasi pati sagu. Namun proses fermentasi menyebabkan total asam dan pH meningkat hingga akhir fermentasi. Pada perlakuan dengan penambahan starter nilai total asam dan pH lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa starter. Akumulasi asam dapat menekan pertumbuhan mikroba yang tidak menguntungkan sehingga meningkatkan daya simpan produk.

Kata kunci: bakteri asam laktat, fermentasi, pati sagu

ABSTRACT

HAPSARI DEWI. Isolation of Lactid Acid Bacteria and the utilization in fermentation of sago starch. Supervised by ANJA MERYANDINI and TITI CANDRA SUNARTI.

Sago starch (*Metroxylon* sp.) is generally produced from home industry that mostly does not apply the good manufacturing practices. Contamination of microorganisms in the extraction process may occur due to the use of water at processing stage which contaminated by pathogenic microorganisms. This study aimed to isolate lactid acid bacteria (LAB) from sago industry wastes as a starter for the fermentation of sago starch in order to improve the safety product. Lactid Acid bacteria concentration which inoculated into culture broth was 10^6 CFU/ml, and the observation was conducted until 10 days of fermentation. The experimental design used was completely randomized with repeated measurement. The results showed that the addition of starter treatment had no significant effect on total soluble carbohydrate (TSC) of culture broth fermentation and populations of microorganisms, both in broth and in the fermentation of sago starch. The fermentation process caused the total acid and pH increased until the end of fermentation. The addition of a starter treatment showed total acid and pH values were higher than the non-starter treatment. Acid accumulation could suppress the growth of unfavorable microbes that improve the product self life.

Keywords: fermentation, lactid acid bacteria, sago starch

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DAN
PEMANFAATANNYA PADA FERMENTASI PATI SAGU**

HAPSARI DEWI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains
pada
Departemen Biologi

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

Judul Skripsi: Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Pemanfaatannya pada Fermentasi
Pati Sagu
Nama : Hapsari Dewi
NIM : G34090069

Disetujui oleh

Prof Dr Anja Meryandini, MS
Pembimbing I

Dr Ir Titi Candra Sunarti, Msi
Pembimbing II

Diketahui oleh

Dr Ir Iman Rusmana, MSi
Ketua Departemen

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan limpahan rahmat-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Januari 2013 hingga Januari 2014 ini adalah pati sagu asam, dengan judul Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Pemanfaatannya pada Fermentasi Pati Sagu.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Prof Dr Anja Meryandini, MS dan Dr Ir Titi Candra Sunarti, MSi selaku pembimbing atas bimbingan, ilmu pengetahuan, saran, nasehat dan kesabarannya selama penelitian dan penyusunan karya ilmiah ini. Terima kasih pula penulis sampaikan kepada Dr Ir Dyah Perwitasari MSc yang telah menjadi penguji sidang serta pemberi saran dalam penyusunan karya ilmiah ini. Penghargaan penulis sampaikan kepada Ibu Dewi sebagai laboran Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi (PPSHB), Ibu Fitri, Pak Jaka, Ibu Ega yang telah banyak membantu dalam proses penelitian secara teknik.

Ucapan terima kasih yang mendalam penulis sampaikan kepada Bapak Sutiyasono, Ibu Daumi, Mbah Deri atas doa, kasih sayang dan dukungannya hingga penulis dapat menyelesaikan studi strata satu dengan baik. Tidak lupa Mas Tio, Mbak Yati, dan Adikku Putri yang telah menyemangati baik secara moril maupun materi.

Ucapan terima kasih yang sebesarnya kepada teman seperjuangan di Lab Ayun, Bu Elly, Bu Marini, Bob, Endah, Kak Anik, Kak Debby, Kak Dedy, Kak Novi, Kak Rahmi, Kak Tini, Rianti, Meita, Shanti, Winni atas bantuannya selama penelitian.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Surya, Ziah, Sofia Hanum, temen teman Al-Iffah, Keluarga besar Biologi 46 atas kebersamaannya serta semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian sampai skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Akhir kata, penulis berharap semoga karya ilmiah ini bermanfaat dan berkah untuk kedepannya.

Bogor, Agustus 2014

Hapsari Dewi

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Perumusan Masalah	1
Tujuan Penelitian	2
Manfaat Penelitian	2
Ruang Lingkup Penelitian	2
METODE	2
Tempat dan Waktu	2
Bahan	2
Alat	2
Metode Penelitian	3
HASIL DAN PEMBAHASAN	4
Pengambilan Jenis Sampel	4
Penapisan Bakteri Asam Laktat pada Limbah Sagu	5
Penyiapan Starter Cair BAL Unggul untuk Proses Fermentasi	6
Karakterisasi Cairan Fermentasi Pati Sagu	6
Karakteristik Mutu Tepung Sagu setelah Penyimpanan Enam Bulan	10
SIMPULAN DAN SARAN	13
Simpulan	13
Saran	13
DAFTAR PUSTAKA	14
RIWAYAT HIDUP	22

DAFTAR TABEL

1	Jenis sampel limbah sagu di Tanah Baru, Bogor	4
2	Kekeruhan sel dan produksi asam bakteri asam laktat terpilih	5
3	TSC cairan fermentasi dengan penambahan starter dan tanpa starter	7
4	Total asam cairan fermentasi (mL NaOH 0.1N/100mL)	8
5	pH cairan fermentasi pati sagu dengan perlakuan penambahan starter dan tanpa starter	8
6	Populasi mikroorganisme cairan fermentasi tanpa starter	9
7	Populasi mikroorganisme cairan fermentasi dengan starter	10
8	Mutu pati sagu setelah penyimpanan	10
9	Total Mikroorganisme tepung sagu hasil fermentasi tanpa starter setelah enam bulan	11
10	Total Mikroorganisme tepung sagu dengan starter setelah enam bulan penyimpanan	12

DAFTAR GAMBAR

1	Pengujian isolat BAL pada media GYP+CaCO ₃ , inkubasi 48 Jam pada suhu ruang	5
2	Kurva turbiditas bakteri asam laktat isolat 4Ea pada media MRS diinkubasi pada suhu ruang	6

DAFTAR LAMPIRAN

1	Metode pewarnaan Gram bakteri	16
2	Prosedur analisis untuk karakterisasi cairan fermentasi	16
3	Prosedur analisis untuk karakterisasi mutu pati sagu	17
4	ANOVA karakterisasi cairan fermentasi	18
5	ANOVA karakterisasi pati sagu fermentasi setelah penyimpanan	20

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sagu merupakan bahan berpati yang berlimpah di Indonesia. Kandungan karbohidrat pati sagu lebih besar daripada padi, tapioka, dan gandum, bahkan tiga kali lebih besar dari jagung. Pati sagu pada umumnya diproduksi secara tradisional, semi mekanis dan mekanis yang dikerjakan dengan menggunakan air sebagai pelarut dan pengendap. Pengolahan ini membutuhkan air dalam jumlah yang sangat banyak sehingga tidak jarang pengelola menggunakan air sumur atau sungai di sekitar tempat pengolahan sebagai sumber air. Pengolahan sagu secara tradisional dan semi mekanis masih kurang memperhatikan aspek kebersihan, sehingga memungkinkan masuknya berbagai jenis bakteri selama proses pengolahan. Hal tersebut menyebabkan kualitas pati sagu pun menjadi rendah (Ahmad *et al.* 1999). Rendahnya kualitas sagu diantaranya ditandai dengan bau asam dan berlendir (Joe dan Huis 1996).

Pengolahan yang kurang higienis dikhawatirkan menumbuhkan mikroba yang menyerang bahan pangan dan menimbulkan penyakit (*foodborne disease*). Penyakit akibat kerusakan pangan salah satunya disebabkan kerusakan secara biologis. Kerusakan secara biologis umumnya disebabkan oleh bakteri patogen, cendawan, virus, dan protozoa. Kerusakan secara biologis dapat dicegah salah satunya dengan biopreservatif. Biopreservatif ialah zat untuk pengawetan secara biologis guna mencegah bakteri patogen atau pembusuk untuk tumbuh. Salah satu biopreservatif yang secara umum digunakan ialah bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL).

BAL meliputi kelompok heterogen dari mikroorganisme yang dapat memberikan aroma dan rasa spesifik pada makanan melalui proses fermentasi serta memperbaiki tekstur pangan. BAL memiliki kemampuan menghambat proses pembusukan serta mematikan atau menghambat mikroorganisme patogen melalui produksi asam organik, hidrogen peroksida, diasetil (Messens dan De Vugst 2002), atau asam fenilaktik (Lavermicocca *et al.* 2000) dan bakteriosin (Vuyst dan Vandamme 1994). Kemampuan BAL membentuk zat antibakteri (bakteriosin) dan asam organik (asam laktat) akan menghambat bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *E. coli* (Rostini 2007). Selain itu, sifat BAL yang tidak menghasilkan toksin pada makanan menjadikannya aman untuk aplikasi pangan. Kelompok BAL antara lain genera *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Enterococcus* dan *Leuconostoc* (Mozzi *et al.* 2010; Klaenhammer *et al.* 2011).

Perumusan Masalah

Produksi pati sagu yang kurang higienis menjadikan pati sagu industri lokal bermutu rendah. Peningkatan mutu sagu dapat digunakan dengan metode biopreservatif, salah satunya dengan menggunakan peran bakteri asam laktat.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri asam laktat dari limbah sagu dan memanfaatkannya sebagai starter untuk meningkatkan keamanan pangan.

Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh bakteri asam laktat unggul dari limbah sagu untuk digunakan sebagai starter pada fermentasi pati sagu, sehingga dapat meningkatkan keamanan pati sagu asam yang dihasilkan.

Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah penggunaan starter cair bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah sagu untuk fermentasi pati sagu. Pati sagu basah yang digunakan berasal dari industri kecil pengolahan sagu serta menggunakan air untuk proses ekstraksi dari air sungai di daerah Cimahpar, Tanah Baru, Kota Bogor.

METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi (PPSHB) IPB, sejak bulan Januari 2013 hingga Januari 2014.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sumber isolat dari limbah sagu dari lima sampel yang diambil (A, B, C, D dan E), pati sagu basah dan air sungai di daerah Tanah Baru Bogor. Bahan lain yang digunakan antara lain NaCl, MRS (*de-Man Rogosa-Sharpe*), GYP (*Glukosa Yeast Extract*), CaCO₃, Bakto Agar, PDA (*Potato Dextrose Agar*), PCA (*Plate Count Agar*), EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*), SSA (*Salmonella Shigella Agar*), fenol 5%, H₂SO₄ pekat.

Alat

Alat utama yang digunakan untuk fermentasi sagu asam adalah gelas plastik bertutup ukuran 500 mL. Alat lain yang digunakan yaitu blender, oven, pH meter, spektrofotometer, mikroskop, inkubator, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), ruang asam, autoklaf, buret, alat-alat gelas dan berbagai alat laboratorium mikrobiologi lainnya.

Metode Penelitian

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil lima macam limbah sagu yaitu limbah pati sagu berumur lima hari (kode A), limbah pati sagu berumur lebih dari tujuh hari (kode B), limbah pati sagu berumur satu malam (kode C), ampas sagu berumur dua hari (kode D), limbah cairan sagu berumur lima hari (kode E). Setiap sampel padat dimasukkan ke dalam tabung steril berisi garam fisiologis (NaCl 0.85%) dan sampel cairan dimasukkan ke dalam tabung steril kosong.

Penapisan Bakteri Penghasil Asam Laktat

Sebanyak 1 mL sampel dilakukan pengenceran serial dengan garam fisiologis hingga tingkat pengenceran 10^4 - 10^7 . Masing-masing hasil pengenceran diambil 0.1 mL untuk disebar dalam media padat MRS, lalu diinkubasi selama 48 jam. Penapisan koloni mikroba berdasarkan morfologinya dengan memilih koloni putih susu yang terbentuk pada media padat, kemudian dimurnikan dengan metode gores kuadran. Pemilihan BAL unggul dilakukan berdasarkan kemampuannya menghasilkan asam laktat yang diuji dengan media *Glucose Yeast Pepton Agar* (GYP) ditambah CaCO_3 , pengukuran total asam dihitung dengan metode titrasi NaOH, densitas kultur bakteri diukur dengan spektrometer (λ 600nm) saat kultur berumur 24 jam dan pH kultur bakteri dengan kertas pH. Bakteri unggul yang terpilih diidentifikasi dengan metode pewarnaan Gram. Prosedur pengujian selengkapnya disajikan pada (Lampiran 1).

Penyiapan Starter Cair BAL Unggul untuk Proses Fermentasi

Penyiapan starter cair BAL untuk fermentasi sagu ini bertujuan untuk menyiapkan inokulum yang akan mempersingkat panjang waktu fermentasi sehingga pemanenan produk dapat dilakukan dengan cepat. Starter cair BAL ditambahkan pada saat bakteri mencapai fase ekponensial. Starter ini dicampur dengan air sungai yang berasal dari sumber air industri pengolahan. Inokulum yang digunakan mengandung BAL sebanyak 4.0×10^9 CFU/mL atau saat OD mencapai 0.5 ($\lambda=600$ nm). Inokulum tersebut ditambahkan ke dalam air sebanyak 1% (v/v) dari air sehingga konsentrasi bakteri asam laktat pada cairan fermentasi sebesar 10^6 CFU/mL.

Fermentasi Sagu dengan Penambahan Starter Cair dan Tanpa Starter

Fermentasi sagu dilakukan dengan metode kultur terendam. Pati basah sebanyak 300 g dimasukkan ke dalam wadah plastik bertutup berukuran 500 mL kemudian ditambah dengan 100 mL air sungai bercampur starter cair BAL (1%) (v/v) dari air. Fermentasi spontan dilakukan dengan tidak menambahkan starter cair. Pati basah sebanyak 300 g dimasukkan ke dalam wadah plastik kemudian ditambahkan dengan 100 mL air sungai. Fermentasi dilakukan selama 10 hari pada suhu ruang dengan pengamatan setiap 2 hari.

Tahap selanjutnya, pati sagu yang sudah difermentasi dikeringkan di bawah sinar matahari selama delapan jam. Pati sagu kering disimpan dalam plastik terikat selama enam bulan. Setelah enam bulan dilakukan pengecilan

ukuran pati menggunakan blender. Pati sagu yang telah diblender diukur kadar air, pH, total asam dan jumlah mikroorganismenya.

Karakteristik Cairan Fermentasi

Karakteristik cairan fermentasi meliputi pH, total asam, populasi mikroorganisme dengan menggunakan media (MRSA, PCA, PDA) dan TSC (*Total Soluble Carbohydrate*). Prosedur analisis karakterisasi cairan fermentasi disajikan pada (Lampiran 2).

Karakteristik Mutu Sagu Asam

Karakterisasi mutu sagu asam meliputi pH, kadar air, populasi mikroorganisme dengan menggunakan media (MRSA, PCA, PDA, EMBA, dan SSA). Prosedur analisis karakterisasi mutu sagu disajikan pada (Lampiran 3).

Analisis Statistik

Analisis dilakukan untuk melihat pengaruh perlakuan (starter dan tanpa starter) pada proses fermentasi. Variabel yang diuji meliputi *total soluble carbohydrate*, total asam, pH, kadar air dan jumlah mikroorganisme. Pengamatan dilakukan secara berulang selama waktu pengamatan fermentasi. Analisis data dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) *In Time* dilakukan menggunakan program SAS 9.1. Uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Jenis Sampel

Jenis sampel berupa beberapa limbah atau produk samping dari ekstraksi pati sagu. Industri yang mengekstrak pati sagu menghasilkan tiga jenis limbah, yaitu residu selular empulur sagu berserat (ampas), kulit batang sagu (*bark*) dan air buangan (*wastewater*) (Indral *et al.* 2012). Sebanyak lima sampel limbah sagu diperoleh dengan kode A, B, C, D dan E (Tabel 1). Limbah sagu merupakan biomassa lignoselulosa yang mengandung komponen penting seperti pati dan selulosa. Ampas sagu mengandung 64% pati, dan serat kasar 14%, protein kasar 3.3%, lemak 0.35% dan abu 5.0% (Hasibuan 2009).

Tabel 1 Jenis sampel limbah sagu di Tanah Baru, Bogor

Kode Sampel	Jenis Limbah
A	Pati sagu berwarna hitam berumur lima hari
B	Pati sagu berwarna hitam berumur lebih dari tujuh hari
C	Pati sagu berwarna hitam berumur satu hari
D	Ampas sagu berumur dua hari
E	Air endapan sagu berumur lima hari

Penapisan Bakteri Asam Laktat pada Limbah Sagu

Isolat bakteri yang berasal dari lima jenis sampel limbah sagu berjumlah 30. Isolat BAL diperoleh dengan pengujian pada media GYP+CaCO₃ dan didapat enam isolat. BAL akan membentuk zona bening (Gambar 1) pada media GYP+CaCO₃ akibat diproduksinya asam yang dapat menetralkan CaCO₃ yang terdapat pada media (Widyastuti dan Sofarianawati 1999). Zona bening dibentuk oleh enam isolat (Ab, Ad, 4Ea, Et_{II}, 5Ea, 5E₂) dengan nilai indeks potensial berkisar antara 0.1-0.75 (Tabel 2). BAL dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti air rendeman sawi (Meryandini *et al.* 2010) dan air rendeman jagung (Rosyidah *et al.* 2013). Mayoritas isolat BAL didapatkan dari sumber air endapan sagu berumur lima hari (Kode E) dan pati sagu berwarna hitam berumur lima hari (kode A). Kadar asam tertinggi diperoleh dari isolat 4Ea. Kemampuan tumbuh yang baik dinyatakan oleh turbiditas sel dan pH yang asam (Tabel 2). Isolat 4Ea mampu hidup dengan sagu sebagai substratnya. Isolat 4Ea kemudian terpilih sebagai isolat yang digunakan sebagai starter.

Tabel 2 Kekeruhan sel dan produksi asam bakteri asam laktat terpilih

Kode isolat	Turbiditas sel (OD) $\lambda=600\text{nm}$ ± 24 jam	pH	Total asam (mg/mL)	NIP* (GYP+CaCO ₃)
Ab	0.105	6	4.95	0.55
Ad	0.162	6	4.5	0.4
4Ea	1.3205	4	7.2	0.7
Et _{II}	0.4305	5	4.5	0.1
5Ea	0.0295	6	4.5	0.75
5E ₂	0.2015	6	5.4	0.17

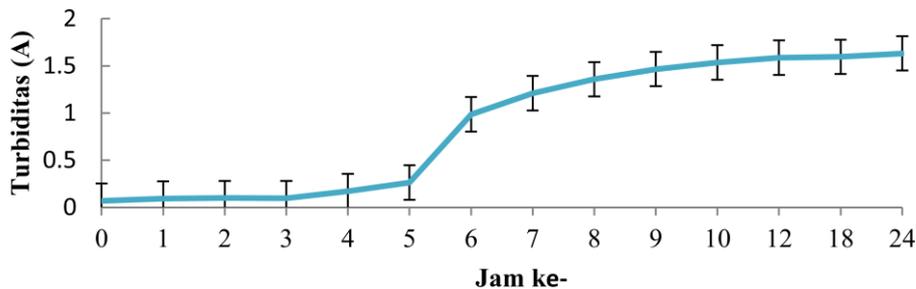
*Ket: NIP (Nilai indeks Potensial)



Gambar 1 Pengujian isolat BAL pada media GYP+CaCO₃, inkubasi 48 Jam pada suhu ruang

Dari Tabel 2 isolat 4Ea memiliki tingkat pertumbuhan dan produksi asam yang tertinggi serta dari Gambar 1 memiliki zona bening besar sehingga terpilih sebagai isolat yang akan diuji lebih lanjut. Berdasarkan hasil uji lanjut berupa pewarnaan Gram, isolat 4Ea merupakan bakteri Gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada selnya (Lampiran 1).

Penyiapan Starter Cair BAL Unggul untuk Proses Fermentasi



Gambar 2 Kurva turbiditas bakteri asam laktat isolat 4Ea pada media MRS diinkubasi pada suhu ruang

Isolat BAL 4Ea mengalami fase lag hingga jam ke-5 inkubasi dan fase eksponensial dimulai setelah jam ke-5. Pada fase eksponensial, mikroba berada dalam keadaan aktif untuk dapat membelah diri dan sangat baik bila diaplikasikan dalam proses fermentasi pangan, yaitu sebagai starter fermentasi (Rahayu dan Nurwitri 2012). Inokulum bakteri BAL 4Ea dikulturkan selama enam jam untuk digunakan sebagai inokulum.

Karakterisasi Cairan Fermentasi Pati Sagu

Fermentasi merupakan salah satu proses yang memecah karbohidrat menghasilkan gula sederhana, misalnya unit glukosa. Selanjutnya glukosa akan dipecah menjadi senyawa-senyawa lain seperti asam laktat, etanol, asam asetat, CO₂ tergantung dari jenis fermentasinya. Susmiati (2010) melaporkan bahwa asam dapat menghidrolisis pati ubi kayu sehingga terjadi kebocoran pada bagian hillus pati.

Efektivitas BAL dalam menghambat bakteri pembusuk dipengaruhi oleh kepadatan BAL, galur BAL, dan komposisi media (Jeppesen dan Huss 1993). BAL memiliki kemampuan menghasilkan metabolit yang menguntungkan untuk manusia diantaranya asam laktat, asam asetat dan etanol. Selain itu BAL juga dapat memproduksi diasetil, CO₂ (sebagai asam karbonik), H₂O₂, reuterine, turunan dari asam laktat, dan sejumlah kecil peptide. Hal tersebut dipengaruhi beberapa faktor diantaranya tipe spesies, nutrisi dan kondisi lingkungan (Ray dan Daeschel 1992).

Proses pembuatan tepung sagu secara fermentasi menghasilkan produk samping yaitu cairan fermentasi. Selama pengamatan baik sagu fermentasi dengan starter maupun tanpa starter (spontan) diamati beberapa parameter cairan fermentasi seperti TSC (*total soluble carbohydrate*), total asam, pH dan jumlah mikroorganisme.

Total Soluble Carbohydrate (TSC)

TSC menunjukkan banyaknya karbohidrat (glukosa) yang terlarut dalam cairan fermentasi. Nilai TSC perlakuan pada kontrol berfluktuatif sepanjang waktu pengamatan (Tabel 3). Nilai TSC pada starter mengalami peningkatan hingga hari ke-8, kemudian mengalami penurunan pada hari ke-10. Hal ini diduga bahwa TSC pada starter mengandung enzim pendegradasi pati dengan konsentrasi rendah dan akan meningkat seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Menurut Haissig dan Dickson (1979) tanpa enzim yang cukup, jumlah glukosa yang dihasilkan dari pemecahan pati akan meningkat bersama lama waktu pencernaan tetapi hidrolisis sempurna tidak tercapai. Jumlah TSC pada perlakuan kontrol tidak berpengaruh terhadap lama waktu fermentasi.

Tabel 3 TSC cairan fermentasi dengan penambahan starter dan tanpa penambahan starter

TSC (mg/mL)	Lama fermentasi (hari)					
	0	2	4	6	8	10
Tanpa starter	2341.71 ^a	2075.61 ^a	1447.56^a	2189.02 ^a	2070.12 ^a	2837.80^a
Starter	976.52^a	1907.32 ^a	2082.93 ^a	2402.74 ^a	3129.27^a	2538.41 ^a

Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak signifikan pada taraf uji 5%.

Total Asam

Lama fermentasi berkorelasi linier dengan total asam yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Astawan (2008), bahwa semakin lama waktu fermentasi dan semakin banyak glukosa yang ditambahkan akan semakin banyak mikroorganisme yang berkembangbiak, sehingga mikroba mampu memecah glukosa dan menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder. Total asam selama waktu pengamatan mengalami penurunan pada hari ke-4 pada kontrol dan starter, kemudian mengalami peningkatan pada hari ke-6 hingga ke-10 (Tabel 4). Total asam tertinggi dihasilkan pada hari ke-10.

Kadar asam setara dengan asam laktat (Hadiwiyoto 1994). Asam laktat merupakan produk akhir dari aktivitas bakteri dalam memecahkan karbohidrat yang terlarut (Moran 1996). Penurunan nilai total asam pada hari ke-4 disebabkan oleh Penggunaan asam asetat dari kelompok kapang khamir dan bakteri asam laktat. Peningkatan asam laktat terjadi pada hari ke-6 (Tabel 4), kondisi ini diduga karena fermentasi secara anaerob oleh BAL baru terjadi setelah hari ke-4. Secara umum hasil fermentasi oleh BAL ditandai dengan meningkatnya total asam, hal ini sesuai dengan pendapat Legowo *et al.* (2009) bahwa peningkatan kadar asam laktat disebabkan adanya aktivitas BAL yang memecah glukosa dan gula-gula lain menjadi asam laktat. Menurut Gad *et al.* (2010), aktivitas BAL akan mempengaruhi tingkat keasaman media karena produk metabolit yang berupa asam laktat. Pada cairan fermentasi yang berisi starter memiliki total asam tertinggi dibandingkan dengan cairan fermentasi kontrol pada akhir fermentasi,

sehingga dapat disimpulkan bahwa adanya peranan BAL dalam pembentukan total asam.

Tabel 4 Total asam cairan fermentasi (mL NaOH 0.1N/100mL)

Perlakuan	Lama fermentasi (hari)					
	0	2	4	6	8	10
Tanpa starter	1.17 ^c	1.10 ^{cd}	0.38^d	1.53 ^c	2.61 ^b	4.30^a
Starter	0.86 ^c	0.81 ^{cd}	0.09^d	1.10 ^c	3.58 ^b	5.94^a

Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak signifikan pada taraf uji 5%.

pH

Nilai pH pada kontrol hari ke-0 sebesar 4.17 dan 4.28 pada starter, kemudian mengalami peningkatan pada hari ke-4. pH pada hari ke-4 baik perlakuan starter dan kontrol meningkat secara drastis dibandingkan dengan hari pengamatan lainnya (Tabel 5), hal ini disebabkan tingginya kadar amonia dalam cairan. Amonia merupakan hasil akhir perombakan nitrogen dalam fermentasi anaerob. Nitrogen diproduksi dari proses deaminasi protein oleh bakteri proteolitik lain selain BAL. Proses deaminasi dapat terjadi karena diawal proses fermentasi tingkat keasaman masih kurang untuk menghambat proses deaminasi. Tepung sagu mengandung protein sebesar 0.2 gram. Bakteri yang merombak protein pada kondisi anaerob adalah *Clostridium*. Protein yang terdeaminasi akan diubah atau difermentasi oleh *Clostridium* menjadi asam asetat, asam butirat, amin, amonia (McDonald *et al.* 2002). Protease dapat pula dihasilkan oleh kapang (Purwadaria *et al.* 1999). Penurunan pH terendah terjadi pada hari ke-10. Menurut Hidayat *et al.* (2006) penurunan pH terjadi karena adanya produksi asam, dan jenis bakteri yang hidup tidak hanya dari galur *Lactobacillus* yang diketahui toleran terhadap pH yang lebih rendah.

Tabel 5 pH cairan fermentasi pati sagu dengan perlakuan penambahan starter dan tanpa starter

Perlakuan	Lama fermentasi (hari)					
	0	2	4	6	8	10
Kontrol	4.17 ^{bc}	4.32 ^b	5.71^a	4.19 ^{bc}	3.99 ^{bc}	3.81^c
Starter	4.28 ^{bc}	4.73 ^b	6.97^a	4.50 ^{bc}	3.92 ^{bc}	3.77^c

Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda signifikan pada taraf uji 5%.

Populasi Mikroorganisme

Respon BAL pada perlakuan pemberian starter dan tanpa starter tidak berpengaruh signifikan, tetapi mengalami peningkatan pada hari ke-6 (Tabel 6 dan 7). Kondisi ini diduga karena BAL memulai fermentasi anaerob setelah hari ke-4

dengan memanfaatkan sumber karbon TSC yang berlimpah (Tabel 6 dan 7). Kondisi ini sesuai dengan total asam yang meningkat dan derajat keasaman (pH) yang menurun. Menurut Triantarti (2000) aktivitas metabolisme yang tinggi akan mengakibatkan proses perbanyakan sel dan produksi metabolit yang tinggi juga seiring dengan meningkatnya ketersediaan nutrisi/faktor tumbuh dan sumber karbon dalam media pertumbuhannya.

Jumlah kapang khamir dan total mikroba juga tidak berpengaruh signifikan terhadap perlakuan pemberian starter dan tanpa starter. Waktu generasi dua kelompok mikroba ini lebih cepat daripada BAL. Jumlah kapang khamir pada perlakuan tanpa starter dan pemberian starter meningkat pada hari ke-2 hingga hari ke-4 (Tabel 6 dan 7). Peningkatan jumlah kapang khamir walau secara statistik tidak berbeda nyata namun terjadi peningkatan hingga hari ke-4 fermentasi. Kondisi ini dapat terjadi karena pH yang belum terlalu rendah karena kemungkinan terjadi perombakan protein yang menyebabkan pH meningkat, namun setelah hari ke-4 dimana pH menurun, pertumbuhan jumlah kapang khamir menurun karena kondisi asam tidak menunjang pertumbuhannya. Selama proses fermentasi, terdapat pula kemungkinan adanya enzim protease yang dihasilkan oleh kapang.

Jumlah total bakteri mengalami peningkatan pada hari ke-2 fermentasi baik pada cairan tanpa starter maupun dengan starter. Rata-rata populasi mikroorganisme mengalami penurunan pada hari ke-10 fermentasi. Penurunan jumlah mikroorganisme secara drastis terjadi akibat kenaikan total asam yang tinggi. Dominasi dan komposisi BAL pada awal dan akhir fermentasi menunjukkan adanya perbedaan. Kondisi ini sama dengan kondisi pada fermentasi yogurt, pickel, sauerkraut dan produk fermentasi lainnya. Komposisi BAL pada tahap awal fermentasi akan sangat mempengaruhi komposisi BAL pada tahap fermentasi lanjutan dan karakteristik produk fermentasi yang dihasilkan (Holzafel *et al.* 2003).

Semakin lama waktu fermentasi menyebabkan total mikroorganisme menurun namun berbeda dengan total asam yang semakin meningkat (Tabel 6 dan 7). Hal ini disebabkan semakin banyaknya pati yang terkonversi menjadi asam. Peningkatan total asam merupakan salah satu penyebab menurunnya mikroorganisme yang sensitif terhadap asam.

Tabel 6 Populasi mikroorganisme cairan fermentasi tanpa starter

Parameter	Lama fermentasi (hari)					
	0	2	4	6	8	10
BAL	7.0×10^{5a}	6.0×10^{5a}	9.0×10^{5a}	1.0×10^{6a}	7.0×10^{5a}	7.0×10^{4a}
Kapang dan khamir	1.0×10^{6a}	2.0×10^{6a}	3.0×10^{6a}	3.0×10^{5a}	3.0×10^{5a}	1.0×10^{5a}
TPC	1.0×10^{6a}	2.0×10^{8a}	1.0×10^{6a}	9.0×10^{5a}	5.0×10^{6a}	4.0×10^{5a}

Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak signifikan pada taraf uji 5%.

Tabel 7 Populasi mikroorganisme cairan fermentasi dengan starter

Parameter	Lama fermentasi (hari)					
	0	2	4	6	8	10
BAL	9.0x10 ^{6a}	7.0x10^{6a}	8.0x10 ^{5a}	5.0x10^{6a}	1.0x10 ^{5a}	5.0x10^{4a}
Kapang dan khamir	7.0x10 ^{5a}	2.0x10^{7a}	1.0x10 ^{6a}	6.0x10 ^{5a}	8.0x10^{4a}	9.0x10^{4a}
TPC	8.0x10 ^{5a}	4.0x10^{6a}	1.0x10 ^{6a}	2.0x10 ^{6a}	4.0x10 ^{3a}	3.0x10^{5a}

Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak signifikan pada taraf uji 5%

Karakteristik Mutu Tepung Sagu setelah Penyimpanan Enam Bulan

Penambahan BAL pada fermentasi tepung sagu sangat menentukan kualitas dan sifat fungsional tepung (Tabel 8). Lama waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar air pada taraf 5%. Kadar air pada perlakuan pemberian starter dan tanpa starter pada hari ke-0 di atas 15%, kemudian menurun hingga pada akhirnya pada akhir fermentasi menjadi 13.06% pada starter sesuai dengan standar SNI 2008 dengan 13% batas maksimal (Tabel 8), berbeda halnya dengan tepung sagu kontrol yang melebihi batas standar SNI yaitu 14.9025%. Penyimpanan tepung sagu dengan kadar air rendah memiliki kualitas yang lebih baik karena pada keadaan ini organisme tidak dapat berkembang.

Tabel 8 Mutu pati sagu setelah penyimpanan

Parameter	Tepung sagu tanpa starter			Tepung sagu dengan starter		
	Lama fermentasi (hari)			Lama fermentasi (hari)		
	0	4	10	0	4	10
Kadar air (%)	16.93 ^b	14.29 ^a	14.90^a	17.15 ^b	12.74 ^a	13.06^a
pH	5.39 ^a	5.22 ^a	5.01^b	5.53 ^a	5.32 ^a	4.47^b
Total asam (mL NaOH 0.1N/100g)	0.25 ^a	0.30 ^a	0.25^a	0.25 ^a	0.30 ^a	0.45^a

Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak signifikan pada taraf uji 5%.

Lama waktu perendaman tepung berpengaruh terhadap hasil akhir tepung sagu, yakni semakin turun nilai pHnya. Tepung sagu yang ditambah starter memiliki nilai pH yang lebih rendah dibanding dengan tepung sagu yang terfermentasi tanpa starter (Tabel 8). Penurunan pH pada tepung sagu yang diberi starter menunjukkan bahwa starter mampu menghasilkan asam organik selama fermentasi.

Pemberian starter pada tepung sagu berpengaruh nyata terhadap total asam. Tepung yang diberi starter mengalami peningkatan nilai total asam sepanjang pengamatan waktu fermentasi, sedangkan pada fermentasi tanpa starter

peningkatan nilai total asam peningkatan hanya terjadi pada hari ke-4 (Tabel 8). Tingginya total asam membuktikan bahwa starter memiliki peran dalam memproduksi asam-asam organik terutama asam laktat.

Populasi mikroorganisme pada tepung sagu baik pada kontrol maupun starter secara keseluruhan mengalami penurunan secara bersamaan pada hari ke-4 (Tabel 9 dan 10). Mikroorganisme yang mengalami penurunan secara signifikan sepanjang waktu fermentasi adalah BAL, kapang khamir, *Enterobacteriaceae*, jumlah *Salmonella* dan *Shigella* dari sampel tanpa starter sedangkan jumlah total bakteri dan jumlah *Salmonella* dan *Shigella* dari sampel dengan starter. Adapun mikroorganisme yang tidak mengalami penurunan secara signifikan ialah BAL, jumlah kapang khamir, *Enterobacteriaceae* dari sampel dengan starter dan jumlah total mikroba (TPC) dari sampel tanpa starter.

Populasi mikroorganisme pada pati sagu hasil fermentasi tanpa starter, hari ke-0 didominasi oleh jumlah *Enterobacteriaceae*, kemudian jumlahnya menurun hingga diakhir fermentasi. Populasi tertinggi BAL terjadi pada hari ke-0 kemudian menurun pada hari ke-4 kemudian stabil hingga hari ke-10. Jumlah kapang dan khamir mengalami penurunan dari awal hingga akhir fermentasi. Jumlah total bakteri menurun selama waktu fermentasi namun tidak signifikan. Nilai terendah jumlah total bakteri terjadi pada hari ke-4. Pada akhir fermentasi populasi *Salmonella* dan *Shigella* tidak terdeteksi lagi pada tepung sagu.

Tabel 9 Total Mikroorganisme tepung sagu hasil fermentasi tanpa starter setelah enam bulan penyimpanan

Lama Fermentasi (hari)	Total Mikroba (CFU/mL)				
	BAL	Kapang khamir	TPC	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i> dan <i>Shigella</i>
0	7.0×10^2	7.0×10^2	9.0×10^2	10.0×10^2	2.0×10^2
4	1.0×10^1	5.0×10^2	8.0×10^1	1.0×10^2	0
10	1.0×10^1	4.0×10^1	2.0×10^2	2.0×10^1	0

Pada hari ke-0 tepung sagu yang diberi starter memiliki jumlah BAL yang berlimpah. Sepanjang waktu fermentasi, BAL mengalami penurunan terutama pada pengamatan hari ke-4 (Tabel 9). Kapang khamir mengalami penurunan namun tidak signifikan. Keberadaan kapang dan khamir terendah terjadi pada hari ke-4. Jumlah total mikroba menurun secara signifikan selama proses fermentasi. *Enterobacteriaceae* sepanjang waktu fermentasi selalu ada namun mengalami penurunan yang tidak signifikan. Sama halnya pada fermentasi tanpa starter, bakteri *Salmonella* dan *Shigella* tidak terdeteksi lagi setelah fermentasi.

Tabel 10 Total Mikroorganisme tepung sagu dengan starter setelah enam bulan penyimpanan

Lama Fermentasi (hari)	Total Mikroba (CFU/mL)				
	BAL	Kapang dan khamir	TPC	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i> dan <i>Shigella</i>
0	5.0×10^3	4.0×10^3	4.0×10^3	1.0×10^3	1.0×10^3
4	0	6.0×10^2	7.0×10^2	4.0×10^2	0
10	1.0	1.0×10^3	2.0×10^2	10.0×10^2	0

Adanya peranan penting dari mikroorganisme dalam fermentasi bahan pangan secara alami, menjadikan perhatian tersendiri dalam peningkatan kualitas bahan pangan. BAL merupakan salah satu mikroba yang dapat mengubah sifat bahan pangan secara fisiko kimia maupun mikrobiologinya melalui produksi asam laktat, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Chabela *et al.* 1999). Aplikasi BAL mempunyai potensi untuk meningkatkan keamanan pangan (*food safety*) produk dan penerimaan (*palatability*) produk karena flavordan aroma yang lebih disukai. Komponen yang diproduksi BAL membuat kondisi disekitarnya tidak cocok bagi pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Shigella* dan yang merusak struktur makanan seperti filamentous fungi (Chung dan Goerpfert 1970; Greenhill *et al.* 2009).

Lama fermentasi menyebabkan pH lingkungan menurun dan total asam meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian Chung dan Goerpfert (1970) bahwa pH minimum untuk pertumbuhan *Salmonella* sp antara 4.05-5.40. Asam organik akan menjadi lebih efisien sebagai agen bakterisidal dibawah kondisi anaerob daripada aerob (Jay *et al.* 2003).

Enterobacteriaceae pada tepung sagu baik hasil fermentasi tanpa starter maupun yang diberi starter dan berdasarkan lamanya waktu fermentasi masih tetap bertahan pada bahan pangan ini, namun lama waktu fermentasi berpengaruh signifikan terhadap penurunan populasinya. Keberadaan BAL dengan jumlah tiga kali lebih besar dari populasi *Salmonella* dan *Shigella* dapat mematikan pertumbuhan populasi *Salmonella* dan *Shigella*. Pada *Enterobacteriaceae*, BAL hanya dapat menekan atau menghambat pertumbuhannya. Pada sisi lain peningkatan jumlah kapang khamir menyebabkan pertumbuhan *Enterobacteriaceae* tertekan atau terhambat (Tabel 9).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Sebanyak 30 isolat mikroba diperoleh dari lima jenis limbah pati sagu, enam isolat diantaranya positif penghasil asam laktat dimana isolat 4Ea terpilih sebagai isolat unggul dan digunakan sebagai starter dalam fermentasi pati sagu. Penambahan starter berpengaruh terhadap penurunan pH dan peningkatan jumlah asam. Akumulasi asam dapat menekan pertumbuhan mikroba yang tidak menguntungkan sehingga meningkatkan daya simpan produk.

Saran

Fermentasi tepung sagu dengan konsentrasi starter BAL yang lebih banyak dapat dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi starter terhadap lama fermentasi dan karakterisasi tepung sagu.

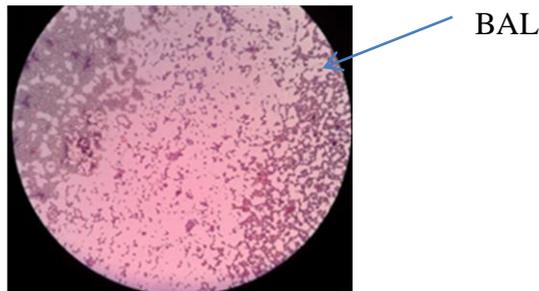
DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad FB, Williams PA, Doublier JL, Durand S, Bulb on A. 1999. Physico-chemical characterization of sago starch. *Carbohydr Polym.* 38:361-370.
- [AOAC] The Association of Analytical Chemist. 1994. *Official Methods of Analysis*. Washington D.C. (US).
- [AOAC] The Association of Analytical Chemist. 1995. *Official Methods of Analysis*. Washington D.C. (US).
- Astawan M. 2008. *Sehat dengan Hidangan Hewani*. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- Chabela MLP, Serrano GMP, Calderon PL, Guerrer I. 1999. Microbial spoilage of meat offered for retail sale in Mexico City. *Meat Sci.* 51:279-282.
- Chung KC, Goepfert JM. 1970. Growth of *Salmonella* at low pH. *J Food Sci.* 35: 326-328.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Calorimetric method for determination of sugar and related substance. *Anal Chem.* 28:350-356.
- Gad AS, Kholif AM, Sayed AF, 2010. Evaluation of the nutrition value of functional yogurt resulting from combination of date palm syrup and skim milk. *Food Technol.* 5:250-259.
- Greenhill AR, Shipton WA, Blavney BJ, Brock IJ, Kupz A, Warner JM. 2009. Spontaneous fermentation of tradisional sago starch in Papua New Guinea. *Food Microbiol.* 26:136-141.
- Hadiwiyoto S. 1994. *Hasil-Hasil Olahan Susu, Ikan, Daging dan Telur*. Yogyakarta (ID): Liberty.
- Haissig BE, Dickson RE. 1979. Starch measurement in plant tissue using enzymatic hydrolysis. *Phys Plant.* 47:151-157.
- Hasibuan M. 2009. Pembuatan film layak makan dari pati sagu menggunakan bahan pengisi serbuk batang sagu dan gliserol sebagai plasticizer [tesis]. Medan (ID): Universitas Sumatra Utara.
- Hidayat N, Padaga MC, Suhartini S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta (ID): Andi Press.
- Holzafel M, Mayrhuber E, Danner H, Braun R. 2003. The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. *Trends Biotechnol.* 21:282-287.
- Indral DD, Salim M, Mardiah E. 2012. Pembuatan bioetanol dari ampas sagu dengan hidrolisis asam dan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *J Kim Unand.* 1(1).
- Jay S, Davos D, Dundas M, Frankish E, Lightfood D. 2003. *Salmonella*. Di dalam: Foodborne Microorganisms of Public Health Significance, Hocking AD, editor. Ed ke-6. Australia (AU): Southwood Press Ltd. hlm 207-266.
- Jeppesen VT, Huss HH. 1993. Characteristic and antagonistic activity of lactic acid bacteria isolated from chilled fish products. *Int J Food Microbiol.* 18:305-320.
- Joe HJ, Huis in't Veld. 1996. Microbial and biochemical spoilage of food: an overview. *Int J Food Microbiol.* 33:11-18.

- Klaenhammer TR, Azcarate-Peril MA, Altermann E, Barrangou R. 2011. Influence of dairy environment of gene expression and substrate utilization in lactic acid bacteria. *J Nutr.* 137:748-750.
- Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A, Lazzaroni S, Corsetti A, Gobbetti M. 2000. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl Environ Microbiol.* 66:4084-4090.
- Legowo, Kusrahayu AM, Mulyani S. 2009. Teknologi pengolahan susu [skripsi]. Semarang (ID): Universitas Diponegoro.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan CA. 2002. *Animal Nutrition 6th-Ed.* London (GB): Prentice Hall.
- Messens W, De Vuyst. 2002. Inhibitory substances produced by *Lactobacillus* isolated from sourdough a review. *Int J Food Microbiol* 72:31-43.
- Meryandini A, Melani V, Sunarti TC. 2011. Addition of cellulolytic bacteria to improve the quality of fermented cassava flour. *Afr J Food Sci Technol.* 2:30-35.
- Moore JW, Stanistski CL, Jurs PC. 2011. *Chemistry: The Molecular Science.* USA: Cengage Learning, Inc.
- Moran J. 1996. Forage conservation: Making Quality Silage and Hay in Australia. East Melbourne (AU): Agmedia.
- Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM. 2010. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria.* United Kingdom (GB): Blackwell Publishing LTD. Hlm 3-5.
- Purwadaria T, Sinurat AP, Supriyati, Hamid H, Bintang IAK. 1999. Evaluasi nilai gizi lumpur sawit fermentasi dengan *Aspergillus niger* setelah proses pengeringan dengan pemanasan. *J Tern Venterin.* 4(4):257-263.
- Rahayu WP, Nurwitri CC. 2012. *Mikrobiologi Pangan.* Bogor (ID): IPB press.
- Ray B, Daeschel M. 1992. *Food Biopreservatives of Microbial Origin.* Boca Raton, Florida (US): CRC Press.
- Rostini I. 2007. Peranan bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*) terhadap masa simpan filet nila merah pada suhu rendah. Bandung (ID): Universitas Padjajaran.
- Rosyidah E, Meryandini A, Sunarti TC. 2013. The one of lactic acid bacteria and cellulolytic bacteria to improve the chemical properties of corn flour. *Makara J Sci.* 17(3):75-80.
- Susmiati Y. 2010. Rekayasa proses hidrolisis pati dan serat ubi kayu untuk produksi bioetanol [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Triantarti. 2000. Optimasi Produksi Dekstran dengan Menggunakan Nira Tebu sebagai Bahan Baku. Pasuruan (ID): PTPN XI Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia.
- Vuyst L de, Vandamme EJ. 1994. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. Di dalam: De Vuyst L, EJ Vandamme. *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria, Microbiology, Genetic and Application.* London (GB): Blackie Academic & Professional. hlm 91-129.
- Widyastuti Y, Sofarianawati E. 1999. Karakter bakteri asam laktat *Enterococcus sp* yang diisolasi dari saluran pencernaan ternak. *J Mikrobiol Indones.* 4(2):50-53.

Lampiran 1 Metode pewarnaan Gram Bakteri

Pewarnaan Gram dimulai dengan membuat olesan kultur bakteri dari agar-agar miring yang berumur 24 jam pada kaca obyek. Olesan kultur bakteri tersebut digenangi dengan ungu kristal sebagai zat warna utama selama satu menit, dibilas dengan akuades, digenangi dengan iodium gram, dibilas dengan akuades, ditetesi dengan etanol 95% sampai olesan terlihat sebagai cicin ungu, dibilas dengan akuades, olesan digenangi dengan pewarna tandingan safranin selama 45 detik, dibilas dengan akuades. Setelah dikeringkan dengan kertas serap, olesan kultur bakteri diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.



Morfologi bakteri ini kokus
Gram positif dengan
Perbesaran 1000x, Isolat
berumur 24 jam.

Lampiran 2 Prosedur analisis untuk karakterisasi cairan fermentasi

1. pH (AOAC 1994)

Sampel cairan fermentasi sebanyak 10 mL diukur pH menggunakan alat pH meter yang sudah dikalibrasi.

2. Total Asam (modifikasi metode Moore *et al.* 2011)

Sampel cairan fermentasi sebanyak 10 mL dimasukkan dalam erlenmeyer. Kemudian diberi indikator phenolptalein dan dititrasi dengan NaOH 0.1 N yang sudah distandarisasi.

$$\text{Total Asam} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times 90 \times \text{fp}}{\text{ml sampel dititrasi}}$$

Keterangan:

fp = faktor pengenceran
N NaOH = Normalitas NaOH
90 = bobot molekul asam laktat

3. Analisis Mikroba (AOAC 1995)

Analisa mikroba diukur dengan menggunakan metode sebar. Sampel sebanyak 1 mL 0.1 lalu disebar dalam cawan petri yang berisi media sebagai berikut: PCA (*Plate Count Agar*) untuk total mikrob, PDA (*Potato Dextrosa*

Agar) untuk jumlah kapang khamir, agar-agar MRS (*de-Mann-Rogosa Sharp*) untuk analisis BAL. Selanjutnya cawan diinkubasi selama 24-48 jam dalam inkubator pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai dilakukan perhitungan jumlah koloni. Jumlah mikroba dihitung berdasarkan SPC (*Standard Plate Count*) dan dinyatakan dalam CFU/mL (*colony-forming units per milliliter*).

4. Total Soluble Carbohydrate (Metode Dubois *et al.* 1956)

Sebanyak 1 mL larutan glukosa standar atau sampel dipipet dan ditambahkan 0.5 mL larutan phenol. Campuran larutan tersebut ditambahkan 2.5 mL larutan H₂SO₄ pekat. Pembacaan campuran larutan dengan spektrofotometer dilakukan dengan panjang gelombang 490 nm. Bila diperlukan, sampel diencerkan agar dapat terukur pada kisaran 0.2-0.8 % Abs (Absorbansi). Kurva standar dibuat dengan konsentrasi glukosa standar 10-60 ppm.

Lampiran 3 Prosedur analisis untuk karakterisasi mutu pati sagu

1. Kadar Air (SNI 3451: 2011)

Kadar air dihitung berdasarkan bobot sampel yang hilang selama pemanasan dengan oven pada suhu (130 ± 3) °C selama kurang lebih satu jam dan dinginkan dalam desikator selama 20-30 menit kemudian ditimbang dengan neraca analitik. Sebanyak 2-5 g contoh dimasukkan ke dalam cawan dan ditimbang. Cawan yang berisi sampel tersebut dipanaskan di dalam oven setelah suhu oven (130 ± 3) °C selama satu jam. Cawan dipindahkan ke dalam desikator dan didinginkan selama 20-30 menit sehingga suhunya sama dengan suhu ruang, kemudian timbang. Kadar air dalam sampel dihitung sebagai berikut.

$$\text{Kadar air} = \frac{A-B}{C} \times 100 \%$$

Keterangan:

A = wadah + contoh sebelum dikeringkan (g)

B = wadah + contoh setelah dikeringkan (g)

C = bobot sampel (g)

2. pH (AOAC 1995)

Sampel sebanyak 0.75 g dilarutkan dalam 15 mL akuades. Pengukuran pH menggunakan alat pH meter yang sudah dikalibrasi.

3. Total Asam (AOAC 1995)

Sampel sebanyak 20 g ditera dengan aquades sampai 100 mL. Larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring hingga didapat 10 mL cairan jernih. Kemudian diberi indikator phenolptalein dan dititrasi dengan NaOH 0.1 yang sudah distandarisasi.

$$\text{Total Asam (mL NaOH/ 100 g bahan)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{fp}}{w} \times 100$$

Keterangan:

fp = faktor pengenceran

N NaOH = Normalitas NaOH

w = bobot sampel (g)

4. Analisis Mikroba (AOAC1995)

Mikroba diukur dengan menggunakan metode sebar. Sebanyak 1 mL sampel dipipet kemudian dilakukan pengenceran pada tingkat yang dikehendaki. Hasil pengenceran dipipet sebanyak 0.1 mL lalu disebar dalam cawan petri yang berisi media sebagai berikut: PCA (*Plate Count Agar*) untuk total mikroba, PDA (*Potato Dextrosa Agar*) untuk jumlah kapang khamir,, agar-agar MRS (*de-Mann-Rogosa Sharp*) untuk analisis BAL, EMBA (*Eosin Methil Blue Agar*) untuk *Enterobacteriaceae*, SSA (*Salmonella Shigella Agar*) untuk *Salmonella* dan *Shigella*. Selanjutnya cwan diinkubasi selama 24-48 jam dalam inkubator pada suhu 37 °C. Setelah masa inkubasi selesai dilakukan perhitungan jumlah koloni. Jumlah mikroba dihitung berdasarkan SPC (*Standard Plate Count*) dan dinyatakan dalam CFU/mL.

Lampiran 4 ANOVA karakterisasi cairan fermentasi

1. pH
ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	0.65010417	0.65010417	1.63	0.3302
Ulangan	2	0.79880833	0.39940417	2.56	0.1262
Waktu	5	17.13012083	3.42602417	22.00	<.0001*
Interaksi	5	1.23112083	0.24622417	1.58	0.2511

Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Kelompok Duncan	Rata-rata	N	Waktu
A	6.3375	4	3
B	4.5225	4	2
B			
C	4.3400	4	4
C			
C	4.2225	4	1
C			
C	3.9525	4	5
C			
C	3.7875	4	6

2. Total Asam
ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	0.27520417	0.27520417	1.46	0.3507
Ulangan	2	0.37760833	0.18880417	0.88	0.4434
Waktu	5	66.28862083	13.25772417	62.01	<.0001*
Interaksi	5	3.82562083	0.76512417	3.58	0.0409*

Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Kelompok Duncan	Rata-rata	N	Waktu
A	5.1225	4	6
B	3.0950	4	5
C	1.3175	4	4
C			
C	1.0125	4	1
C			
D	0.9575	4	2
D			
D	0.2375	4	3

*Interaksi antara waktu dan perlakuan

Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Kelompok Duncan	Rata-rata	N	Interaksi
A	5.0945	2	1_6
B	4.3000	2	0_6
B			
C	3.5800	2	1_5
C			
C	2.6100	2	0_5
D	1.5300	2	0_4
D			
E	1.1700	2	0_1
E			
E	1.1050	2	0_2
E			
E	1.1050	2	1_4
E			
E	0.8550	2	1_0
E			
E	0.8100	2	1_2
E			
E	0.3850	2	0_3
E			
E	0.0900	2	1_3

3. TSC (*Total Soluble Carbohydrate*)

ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	39263.197	39263.197	1.19	0.3892
Ulangan	2	65982.456	32991.228	0.06	0.9429
Waktu	5	2706561.202	541312.240	0.97	0.4802
Interaksi	5	3718027.172	743605.434	1.33	0.3262

4. Bakteri asam laktat

ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	5.2540004E13	5.2540004E13	5.02	0.1544
Ulangan	2	2.0935742E13	1.0467871E13	0.55	0.5954
Waktu	5	7.7464571E13	1.5492914E13	0.81	0.5691
Interaksi	5	6.9171171E13	1.3834234E13	0.72	0.6220

5. Jumlah Kapang khamir

ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	5.1254805E13	5.1254805E13	0.72	0.4846
Ulangan	2	1.4168781E14	7.0843903E13	1.15	0.3545
Waktu	5	4.1326619E14	8.2653237E13	1.34	0.3220
Interaksi	5	3.5546801E14	7.1093602E13	1.16	0.3935

6. Total bakteri

ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	3.8165426E15	3.8165426E15	0.97	0.4283
Ulangan	2	7.8611397E15	3.9305699E15	1.07	0.3796
Waktu	5	1.9258186E16	3.8516372E15	1.05	0.4422
Interaksi	5	1.7757593E16	3.5515185E15	0.97	0.4824

Lampiran 5 ANOVA karakterisasi pati sagu fermentasi setelah penyimpanan

1. Kadar Air

ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	3.36020833	3.36020833	1.14	0.3967
Ulangan	2	5.87041667	2.93520833	3.95	0.1128
Waktu	2	29.31401667	14.65700833	19.74	0.0085*
Interaksi	2	2.49181667	1.24590833	1.68	0.2957

Duncan Grouping	Rata-rata	N	Waktu
A	17.0450	4	1
B	13.9850	4	6
B	13.5225	4	3

2. pH ANOVA

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F- Value	Pr>F
Perlakuan	1	0.00007500	0.00007500	0.01	0.9484
Ulangan	2	0.02808333	0.01404167	0.91	0.4721
Waktu	2	0.69045000	0.34522500	22.39	0.0067*
Interaksi	2	0.09455000	0.04727500	3.07	0.1558

Duncan Grouping	Mean	N	W
A	5.46500	4	1
A	5.27000	4	3
B	4.88750	4	6

3. Total Asam ANOVA

Sumber keragaman	Derajat bebas	Type III SS	Kuadrat tengah galat	F- hitung	Pr>F
Perlakuan	1	0.01333333	0.01333333	6.49E31	<.0001*
Ulangan	2	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Waktu	2	0.02000000	0.01000000	4.00	0.1111
Interaksi	2	0.02666667	0.01333333	5.33	0.0744

Duncan Grouping	Rata-rata	N	Waktu
A	0.33333333	6	1
B	0.26666667	6	0

RIWAYAT HIDUP

Hapsari Dewi, lahir di Bekasi pada tanggal 6 September 1991. Penulis adalah putri kedua dari tiga bersaudara dari ayah Sutyasono dan ibu Daumi dengan kakak bernama Setio Adi Saputro dan adik bernama Putri Mawardani. Pada tahun 1997 penulis memulai pendidikan di SDN Kranji XIII dan lulus tahun 2003. Pada Tahun 2003 penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 4 Bekasi dan lulus tahun 2006. Pada Tahun 2006 penulis melanjutkan pendidikan di SMAN 3 Bekasi dan lulus pada tahun 2009.

Penulis melanjutkan pendidikan di Perguruan Tinggi Negeri, Institut Pertanian Bogor tahun 2009 melalui jalur USMI (Undangan Seleksi Masuk IPB) di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Penulis melaksanakan studi lapang mengenai Status Mikoriza Arbuskula dan Keragaman Cendawannya pada Tumbuhan di Hutan Pendidikan Gunung Walat (2011); praktik lapang di bidang Produksi Yoghurt PT Bukit Baros Cempaka, Baros, Sukabumi periode Juli hingga Agustus 2012.

Selama masa perkuliahan, penulis aktif di organisasi kemahasiswaan sebagai bendahara Panahan, Anggota Bina Desa Badan Eksekutif Mahasiswa Keluarga Mahasiswa (BEM KM), staf Himpunan Profesi Biologi divisi BIOWORLD. Penulis juga berpartisipasi dalam kepanitian beberapa acara seperti Seminar nasional dan Grand Biodiversity yang diadakan HIMABIO, FIM (Festival Ilmuan Muslim) yang diadakan serum G. Penulis pernah mengikuti kompetisi ajang olahraga basket antar angkatan di Departemen Biologi dan antar Departemen di FMIPA. Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Biologi Dasar (TPB).