
Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat(R. Haryo Bimo Setiarto dan Nunuk Widhyastuti)

PENGARUH FERMENTASI BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA TEPUNG GADUNG MODIFIKASI (*Dioscorea hispida*)

Effect of Lactic Acid Bacteria Fermentation for Physicochemical Properties of Modified Yam Flour (*Dioscorea hispida*)

R. Haryo Bimo Setiarto* dan Nunuk Widhyastuti

Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI

Jalan Raya Jakarta-Bogor Km 46, Kawasan CSC Cibinong 16911, Jawa Barat

*email: haryobimo88@gmail.com

Diterima: 26 April 2016, revisi akhir: 10 Juni 2016 dan disetujui untuk diterbitkan: 15 Juni 2016

ABSTRAK

Gadung (*Dioscorea hispida*) merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang tergolong dalam family Dioscoreaceae. Umbi gadung memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi, akan tetapi juga mengandung beberapa senyawa racun berupa glikosida sianogenik, alkaloid dioscorin, dehydrosioscorin, saponin dan sapogenin yang berbahaya bagi kesehatan. Fermentasi umbi gadung dapat mempengaruhi sifat fisikokimia dan amilografi tepung gadung modifikasi serta menurunkan senyawa toksiknya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bakteri asam laktat (BAL) penghasil amilase terhadap sifat fisikokimia dan amilografi tepung gadung modifikasi. Sebanyak 15 isolat *Lactobacillus plantarum* telah diseleksi, sehingga diperoleh 2 isolat BAL yaitu *L. plantarum* B291 dan B307 dengan aktivitas enzim amilase paling tinggi untuk digunakan sebagai starter dalam fermentasi pembuatan tepung gadung modifikasi. Penambahan BAL pada proses fermentasi dapat menurunkan kadar HCN tepung gadung modifikasi, walaupun penurunan kadar HCN yang dihasilkan tidak signifikan dan belum memenuhi persyaratan SNI. Perlakuan fermentasi BAL menyebabkan peningkatan kadar protein, lemak dan asam laktat pada tepung gadung modifikasi, namun berdampak pada penurunan nilai pH dan kadar karbohidratnya. Dari hasil analisis amilografi diketahui bahwa tepung gadung kontrol yang diparut tanpa fermentasi memiliki profil gelatinisasi yang paling baik karena paling tahan panas.

Kata Kunci: Amilografi, bakteri asam laktat, fermentasi, fisikokimia, tepung gadung modifikasi

ABSTRACT

Yam (Dioscorea hispida) is one of the tubers belonging to the family dioscoreaceae. Yam tubers not only have high content of carbohydrate, but also contain some toxic compounds such as: cyanogenic glycosides, alkaloids dioscorin, dehydrosioscorin, saponin and sapogenin. Fermentation of yam tubers can affected for physicochemical and amylography characteristics of modified yam flour and reduced toxic compounds. This study was aimed to determine effect of lactic acid bacteria (LAB) fermentation on the physicochemical properties and characteristics of yam flour amylography modification. From the 15 isolates of Lactobacillus plantarum had been selected two isolate (L. plantarum B291 and B307) with the highest amylase enzyme activity to be used as starter fermentation to produce modified yam flour. Fermentation of LAB could reduce levels of HCN on modified yam flour, although decreased levels of HCN was not significant with requirements of SNI. Fermentation of LAB increased levels of protein, fat and lactic acid, but decreased pH value and carbohydrate content in modified yam flour. Based on results of amylography analysis, control of yam flour with shredded without fermentation had the best gelatinization profile because it most resistant about heating.

Keywords: Amylography, lactic acid bacteria, fermentation, physicochemical, modified yam flour

PENDAHULUAN

Gadung (*Dioscorea hispida*) merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang tergolong dalam famili Dioscoreaceae. Tanaman ini seperti halnya jenis umbi yang lain mempunyai kandungan karbohidrat yang tinggi, sehingga umbi gadung sangat potensial sebagai sumber karbohidrat non beras (Amandikwa *et al.*, 2015). Meski kandungan karbohidratnya tinggi umbi gadung juga mengandung beberapa senyawa racun yang berbahaya bagi kesehatan. Permasalahan mendasar pada umbi gadung adalah pemanfaatan yang terbatas pada beberapa produk olahan seperti keripik maupun tepung gadung. Hal ini disebabkan oleh kandungan racun yang berupa senyawa glikosida sianogenik, alkaloid dioscorin, dehydrodioscorin, dan senyawa pahit yang terdiri dari saponin dan sapogenin (Kumoro dan Hartati, 2015). Saat ini dioscorin, saponin dan turunannya sapogenin telah mendapat perhatian khusus karena merupakan senyawa yang berpotensi sebagai obat (Kumoro dan Hartati, 2015).

Gadung mengandung sianida yang beracun, akibatnya masyarakat takut untuk mengkonsumsi mengkonsumsi umbi gadung. Glukosida sianogenik merupakan prekursor sianida pada gadung sehingga bila terpecah secara sempurna akan menjadi sianida bebas yang berbahaya bagi kesehatan (Kumoro dan Hartati, 2015). Umbi gadung dapat diolah menjadi tepung gadung melalui teknik pengolahan tertentu sehingga kadar sianidanya sesuai dengan batas kandungan yang masih aman untuk dikonsumsi (Aboubakar *et al.*, 2008). Di samping itu terdapat juga beberapa golongan enzim endogenus pada umbi gadung seperti β -glukosidase, liase, dan oxinitrilase (Medoua *et al.*, 2008). Kumoro dan Hartati (2015) melaporkan bahwa enzim β -glukosidase pada berbagai umbi-umbian memiliki aktivitas optimum pada pH 4 sampai 6 dan suhu 40°C - 50°C. Umbi gadung dapat mengalami kerusakan jaringan karena proses pengirisan atau penghancuran. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya kontak antara substrat dengan enzim endogenus. Substrat mengalami perombakan menjadi senyawa sianida

bebas yang mudah menguap dan larut dalam air (Falade dan Ayetigbo, 2015).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif, katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat. Bakteri ini memiliki kemampuan memanfaatkan pati sebagai substrat sehingga dikenal sebagai BAL penghasil amilase (Moradi *et al.*, 2015). Enzim alfa amilase (EC 3.2.1.1) adalah enzim yang menghidrolisis ikatan linier α -1,4 glikosidik pada amilosa secara acak sehingga menghasilkan campuran dekstrin, maltosa, dan glukosa (Alariya *et al.*, 2013). Beberapa jenis BAL seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*, *L. manihotivorans*, *L. amylophilus*, *L. amylovorus*, *L. amilolyticus*, *Leuconostoc cellobiosus*, *L. acidophilus*, *Leuconostoc sp.*, *Streptococcus bovis* dan *Streptococcus macedonicus* telah dilaporkan mampu menghasilkan enzim amilase untuk mendegradasi pati (Moradi *et al.*, 2015, Bhanwar dan Ganguli 2014, Reddy *et al.*, 2008, Pokhrel *et al.*, 2013). Pada penelitian ini dilakukan seleksi 15 isolat BAL *Lactobacillus plantarum* koleksi laboratorium INACC Pusat penelitian Biologi LIPI berdasarkan parameter aktivitas enzim amilase tertinggi dan jumlah total koloni BAL. Aktivitas amilase yang tinggi mengindikasikan potensi isolat BAL dalam menghidrolisis substrat amilosa pada umbi gadung. Hasil hidrolisis enzim amilase pada substrat pati gadung akan menghasilkan oligosakarida rantai pendek, maltosa, maltotriosa dan monomer α -D-glukosa (Reddy *et al.*, 2008). Sementara itu jumlah total koloni BAL yang tinggi dapat mendukung kemampuan BAL dalam menghasilkan aktivitas amilase yang tinggi.

Perlakuan fermentasi BAL penghasil enzim amilase pada umbi gadung diindikasikan dapat menyebabkan perubahan terhadap karakteristik fisikokimia dan juga sifat amilografi tepung gadung modifikasi (Ramon *et al.*, 2015). Di samping itu fermentasi BAL juga diindikasikan mampu mengurangi keberadaan senyawa toksik seperti sianida (HCN) dan dioscorin pada tepung gadung (Abiodun dan Akinoso, 2014). Pemanfaatan umbi dengan mengolahnya menjadi tepung bertujuan agar lebih mudah digunakan dengan umur

simpan lebih lama (Umoh dan Iwe, 2014). Ada dua metode penepungan yang sering dilakukan yaitu cara konvensional (pengirisan umbi) dan pamarutan yang diikuti dengan pengempaan. Cara penepungan dengan metode pamarutan dan pengempaan diketahui dapat meminimalkan waktu pengeringan tepung (Huang *et al.*, 2016). Informasi mengenai karakteristik amilografi sangat diperlukan untuk mengetahui lebih detail mengenai sifat gelatinisasi pati gadung, viskositas maksimumnya, kemampuan *set back viscosity*, ketahanan terhadap panas dan pengadukan, serta aplikasinya dalam pengolahan pangan (Kusumayanti *et al.*, 2015). Sementara itu sifat fisikokimia dapat memberikan informasi mengenai nilai nutrisi yang terkandung dalam tepung gadung fermentasi (Kusumayanti *et al.*, 2015).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh fermentasi bakteri asam laktat penghasil amilase terhadap sifat fisikokimia dan karakteristik amilograf tepung gadung modifikasi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan minat masyarakat untuk memanfaatkan umbi gadung sehingga dapat membantu menyelesaikan program diversifikasi pangan berbasis umbi-umbian. Tepung gadung modifikasi hasil fermentasi umumnya mempunyai sifat amilografi dan fisikokimia yang berbeda dari tepung umbi-umbian yang lain.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Pangan, Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong. Waktu pelaksanaan penelitian adalah bulan Maret sampai November 2015.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 15 strain *Lactobacillus plantarum* (koleksi laboratorium INACC, Pusat Penelitian Biologi LIPI). Untuk bahan baku tepung gadung modifikasi digunakan umbi gadung asal kecamatan Jampangkulon, kabupaten Sukabumi Jawa Barat.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis 1700 Shimadzu, *High Speed Refrigerated Centrifuge* Type 6500,

Viscograph Brabender, alat distilasi kjeldahl, alat sokhlet lemak, tanur, eksikator, oven, pin disk mill, pemanas listrik, pipet mikro, seperangkat alat gelas.

Pengujian kemampuan tumbuh dan aktivitas amilase isolat bakteri asam laktat (BAL) pada media MRS pati

Pengujian kemampuan tumbuh 15 isolat BAL koleksi INACC pada media MRS pati Agar dilakukan dengan cara sebagai berikut: isolat BAL diremajakan pada media MRS agar yang mengandung pati sebagai sumber karbon, diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Sel dipanen menggunakan ose dan disuspensikan dalam akuades steril, dibaca serapan optiknya (OD) pada panjang gelombang 600 nm sampai mencapai OD 0,5 (disebut inokulum). Inokulum sebanyak 2 % diinokulasikan pada media MRS pati cair, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Total BAL dihitung menggunakan metode TPC dengan media MRS Agar.

Pengujian aktivitas amilase (secara kualitatif dan kuantitatif) dilakukan dengan menumbuhkan isolat BAL pada media MRS agar yang mengandung pati sebagai sumber karbon, diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Pada akhir inkubasi, larutan KI ditetaskan pada media tumbuh. Adanya zona bening disekitar koloni BAL menunjukkan adanya aktivitas amilase dari BAL. Selanjutnya sebanyak 2% isolat BAL (OD 0,5) ditumbuhkan pada media MRS cair yang mengandung pati, diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari dan setiap hari dilakukan pengambilan contoh (1 mL), disentrifugasi (10.000 rpm, 5 menit), filtrat yang diperoleh dianalisa aktivitas amilasena. Aktivitas amilase diuji berdasarkan prinsip reduksi intensitas warna biru dari hidrolisis pati secara enzimatis dan pembentukan kompleks pati-iod (Alariya *et al.*, 2013). Sebanyak 0,25 mL filtrat direaksikan dengan campuran 0,25 mL substrat pati (0,1%) dan 0,5 mL buffer asetat (pH 5,0) atau fosfat (pH 7,0) yang telah dipreinkubasi selama 5 menit pada suhu 35°C. Reaksi enzimatis dilakukan pada suhu 35°C selama 10 menit dan dihentikan dengan penambahan 0,25 mL HCl 0,1 N.

Selanjutnya ditambahkan 0,25 mL larutan Iod 0,2%, divortex dan dibaca serapan optiknya pada panjang gelombang 690 nm. Satu unit aktivitas amilase didefinisikan sebagai banyaknya enzim amilase yang mengakibatkan reduksi intensitas warna biru dari 1 mg kompleks pati-iodine pada suhu 35°C selama 1 menit per mL larutan enzim.

Preparasi inokulum

Isolat BAL terpilih diremajakan pada media MRS agar yang mengandung gadung (10%, b/v) sebagai sumber karbon, diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Sel kemudian dipanen menggunakan jarum ose, disuspensikan ke dalam akuades steril, diukur turbidimetriknya sampai mencapai nilai 0,5. Jumlah sel BAL selanjutnya dihitung dengan metoda TPC pada media MRS agar.

Pembuatan tepung gadung modifikasi

Pembuatan tepung gadung modifikasi mengacu pada metode Amandikwa et al. (2015). Umbi gadung dicuci dan dikupas untuk menghilangkan kotoran. Umbi gadung lalu direndam dalam alkohol selama 5 menit untuk mematikan bakteri patogen. Setelah itu umbi gadung diberi variasi perlakuan yaitu dipotong chips dengan ketebalan sekitar 5 mm dan diparut. Sebanyak 400 g umbi gadung hasil potongan chips maupun parutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 mL. Setelah itu dilakukan fermentasi terendam dengan menginokulasi sampel sebanyak 2% (v/v) inokulum *L. plantarum* B291 dan *L. plantarum* B307 terhadap volume cairan fermentasi sampel sampai homogen. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Selanjutnya gadung hasil fermentasi ditiriskan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C selama 16 jam. Setelah itu gadung digiling dengan *pin disk mill* sehingga diperoleh tepung gadung modifikasi ukuran 100 mesh. Sampel gadung sebanyak 6 g diambil setiap hari untuk dihitung jumlah total bakteri dan diukur kadar keasamannya.

Jumlah total bakteri dihitung dengan metode pengenceran serial dan ditumbuhkan pada media MRS agar (untuk BAL) dan PCA (untuk total bakteri). Pengukuran kadar keasaman dilakukan

dengan cara sebagai berikut: 5 g sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL akuades. Sampel kemudian dishaker selama 20 menit, disaring dan cairannya disentrifugasi. Filtrat diukur pHnya dengan pH meter dan dititrasi menggunakan 0,1 N NaOH untuk menentukan kadar asamnya. Fenolftalin digunakan sebagai indikator.

Analisis proksimat tepung gadung modifikasi

Analisis kadar proksimat yang dilakukan pada tepung gadung modifikasi diantaranya kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein dan kadar karbohidrat yang mengacu pada (SNI 01-2891-1992).

Analisis total asam tertitrasi (AOAC, 2005)

Sebanyak 5 gram sampel ditambah aquades 100 ml, dishaker selama 30 menit pada suhu 37°C, disaring dan disentrifuge (15 menit, 9500 rpm). Sebanyak 50 ml filtrat dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambah indikator phenolphthalein dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N.

Analisis kadar HCN (AOAC, 2005)

Pengukuran kadar HCN pada tepung gadung fermentasi dilakukan dengan metode spektrofotometri. Prinsip kerja spektrofotometri adalah sianida dalam sampel diubah menjadi sianogen klorida (CNCl) karena bereaksi dengan khloraminT pada pH kurang dari 8, sehingga terhidrolisis menjadi asam sianat. Setelah bereaksi secara sempurna, CNCl membentuk warna merah biru dengan asam barbiturat dalam piridin dan warna yang terjadi dibaca pada panjang gelombang 578 nm.

Profil Amilograf tepung gadung modifikasi (AOAC, 2005)

Analisis profil amilograf bertujuan untuk mengetahui suhu gelatinisasi dan *pasting properties* dari tepung gadung modifikasi. Sebanyak 45 g sampel tepung gadung fermentasi (100 mesh) dilarutkan dengan 450 ml air destilata, kemudian dimasukkan ke dalam mangkuk (*bowl*). Lengan sensor

dipasang dan dimasukkan ke dalam *bowl* dengan cara menurunkan head viscograph brabender. Suhu awal termoregulator diatur pada 20°C atau 25°C. Switch pengatur diletakkan pada posisi bawah sehingga jika mesin dihidupkan suhu akan meningkat 1,5°C setiap menit. Mesin *Viscograph Brabender* selanjutnya dihidupkan, setelah suspensi mencapai suhu 30°C, pena pencatat diatur pada skala kertas amilogram. Setelah pasta mencapai suhu 95°C, mesin viscograph brabender dimatikan. Parameter analisis amilograf terdiri dari: 1. Suhu awal gelatinisasi, yaitu suhu pada saat kurva mulai naik; 2. Suhu pada puncak gelatinisasi, yaitu suhu pada saat nilai maksimum viskositas dapat dicapai; 3. Viskositas maksimum pada puncak gelatinisasi dinyatakan dalam Brabender Unit.

Analisis statistik

Rancangan percobaan untuk analisis aktivitas amilase dan pertumbuhan 15 isolat BAL, analisis proksimat, HCN, serta kadar

asam laktat pada tepung gadung modifikasi adalah rancangan acak lengkap (RAL). Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan Analisis ragam (ANOVA). Jika berbeda signifikan maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada level 95% ($\alpha=0,05$). Data diolah menggunakan perangkat lunak SPSS 17.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

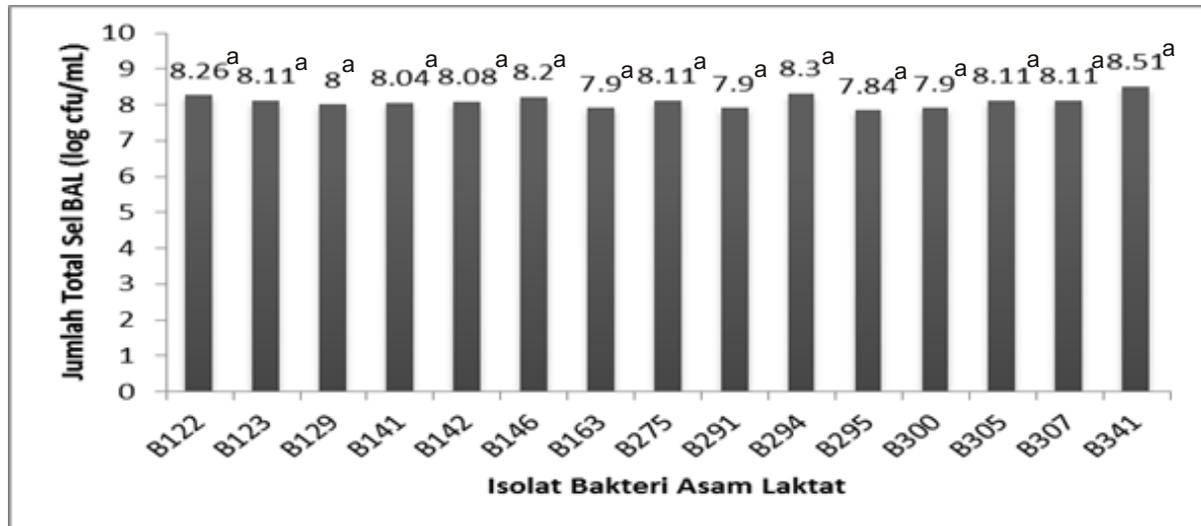
Seleksi BAL penghasil amilase untuk starter fermentasi umbi gadung

Aktivitas amilase dan pertumbuhan dari 15 isolat BAL yang ditumbuhkan pada media cair MRS pati terlihat pada Tabel 1 dan Gambar 1. Analisis aktivitas enzim amilasena dilakukan terhadap 15 isolat BAL selama 3 hari. Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa 2 isolat BAL yaitu B291 dan B307 memiliki aktivitas enzim amilase yang paling tinggi, stabil dan berbeda nyata ($p<0,05$) jika dibandingkan dengan isolat BAL yang lain (Tabel 1).

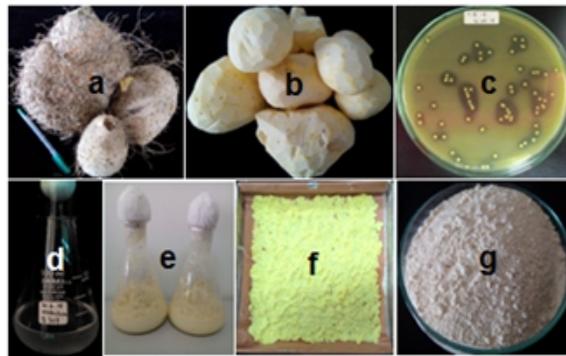
Tabel 1. Aktivitas amilase 15 isolat BAL koleksi INACC

Isolat BAL	Aktivitas amilase ($\times 10^6$ Unit/mL reduksi 1 mg kompleks pati-iodine) hari ke-		
	1	2	3
B122	6.920	5.796	6.299
B123	6.106 ^c	5.697 ^b	6.092 ^c
B129	6.139 ^c	5.916 ^c	6.312 ^d
B141	6.502 ^e	6.015 ^c	6.365 ^d
B142	6.352 ^d	5.840 ^b	6.343 ^d
B146	6.160 ^c	6.092 ^c	6.594 ^e
B163	6.449 ^e	5.236 ^f	5.371 ^f
B275	6.844 ^a	6.279 ^d	7.085 ^g
B291	7.198^h	6.279^d	7.347^h
B294	6.588 ^e	6.410 ^d	6.266 ^d
B295	6.588 ^e	6.312 ^d	6.430 ^d
B300	6.246 ^d	6.256 ^d	6.528 ^e
B305	6.502 ^e	5.971 ^c	6.856 ^a
B307	7.166^h	6.498^d	6.834^a
B341	6.449 ^d	6.356 ^d	6.626 ^e

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom dan baris menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($\alpha=5\%$), setelah dilakukan uji statistik dengan uji BNT pada SPSS 17.0



Gambar 1. Total sel isolat BAL pada media MRS pati setelah inkubasi 24 jam
 Keterangan: Huruf yang berbeda pada diagram batang menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata ($\alpha=5\%$), setelah dilakukan uji statistik dengan uji BNT pada SPSS 17.0



Gambar 2. Pembuatan tepung gadung modifikasi dengan fermentasi BAL
 a. Umbi gadung, b. umbi yang sudah dikupas, c. isolat *L. plantarum* B307, d. inokulum *L. plantarum* B307, e. fermentasi umbi, f. pengeringan, g. tepung modifikasi

Isolat BAL B291 memiliki aktivitas enzim amilase berturut-turut 7.198×10^6 U/mL, 6.279×10^6 U/mL dan 7.347×10^6 U/mL selama hari pertama sampai dengan hari ketiga analisis. Sementara itu isolat BAL B307 memiliki aktivitas enzim amilase berturut-turut 7.166×10^6 U/mL, 6.498×10^6 U/mL dan 6.834×10^6 U/mL selama hari pertama sampai dengan hari ketiga analisis. Kedua isolat BAL tersebut dipilih untuk digunakan sebagai starter dalam fermentasi pembuatan tepung gadung modifikasi. Selama analisis aktivitas amilase terhadap 15 isolat BAL diketahui terjadi penurunan aktivitas amilase pada hari ke-2 jika dibandingkan dengan aktivitas amilase pada

hari ke-1. Selanjutnya, terjadi peningkatan secara signifikan ($p < 0,05$) aktivitas enzim amilase pada saat hari ke-3 analisis.

Berdasarkan tingkat pertumbuhannya isolat *L. plantarum* B341 memiliki laju pertumbuhan logaritmik yang paling tinggi dan signifikan jika dibandingkan dengan isolat BAL yang lain (Gambar 1). Hal ini ditunjukkan dengan jumlah selnya yang paling banyak setelah diinkubasi selama 24 jam yaitu sebesar 8.51 (log cfu/mL). Akan tetapi isolat *L. plantarum* B341 tidak digunakan sebagai starter dalam fermentasi gadung karena aktivitas amilasanya yang rendah. *L. plantarum* B341 masih perlu dioptimasi dengan meningkatkan penambahan substrat *starch soluble* ke

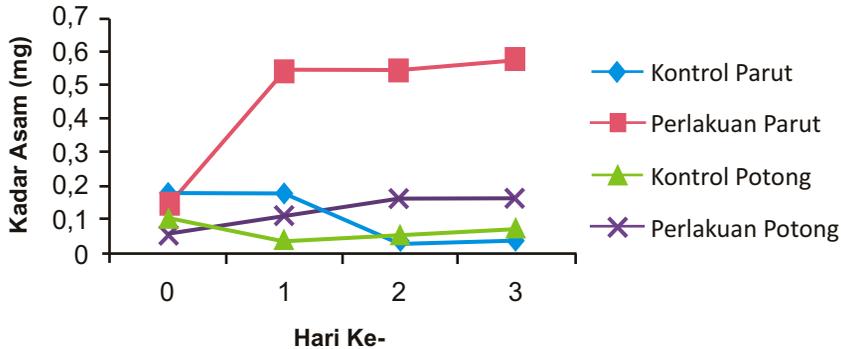
dalam media pertumbuhannya (MRS + pati).

Bahan penelitian (umbi gadung, isolat BAL dan inokulum) serta tepung modifikasi diperlihatkan dalam Gambar 2. Hasil pengamatan secara visual pada umbi gadung yang difermentasi menunjukkan bahwa tidak ada perubahan warna (umbi tetap berwarna kuning) baik pada kontrol maupun pada perlakuan inokulasi BAL dari awal hingga akhir fermentasi. Aroma umbi tetap tercium tajam pada kontrol, sedangkan pada perlakuan BAL terjadi perubahan aroma menjadi sedikit asam. Umbi gadung hasil fermentasi yang telah dikeringkan, selanjutnya digiling dan diayak. Tepung gadung modifikasi maupun kontrol memiliki warna yang serupa yaitu putih.

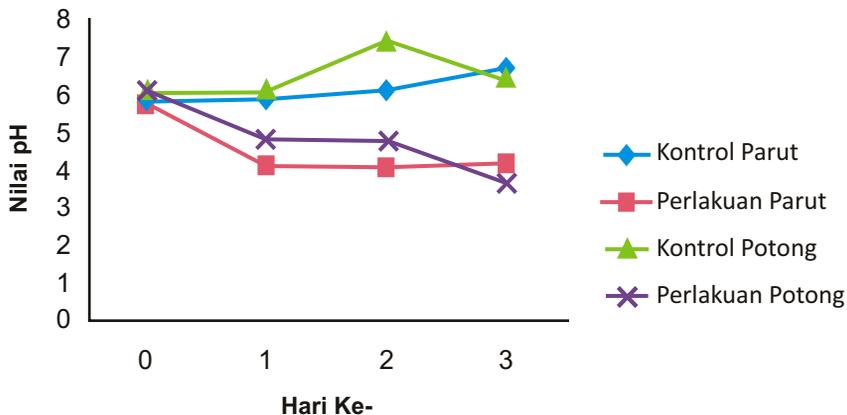
Analisis kadar asam laktat, pH, jumlah total BAL selama fermentasi umbi gadung

Hasil pengukuran kadar asam laktat, nilai pH dan jumlah BAL selama proses fermentasi diperlihatkan dalam Gambar 3. Pada Gambar 3 a tampak bahwa penambahan starter BAL mengakibatkan

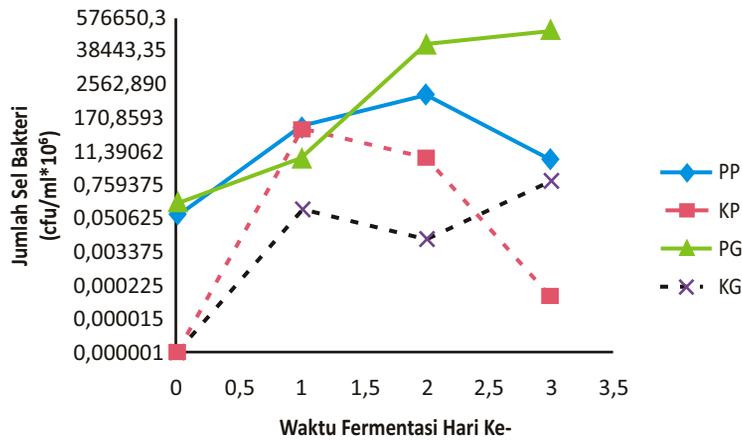
meningkatnya kadar asam laktat pada substrat umbi gadung selama proses fermentasi berlangsung, baik pada perlakuan umbi yang diparut (PP) maupun umbi yang dipotong (PG). Meningkatnya kadar asam laktat tersebut berkorelasi dengan penurunan pH substrat umbi gadung (Gambar 3 b). Kadar asam laktat pada perlakuan parut lebih tinggi dibandingkan perlakuan potong. Hal ini dikarenakan perlakuan parut semakin meningkatkan luas permukaan substrat sehingga kontak antara BAL dengan substrat pati semakin besar. Hal ini berakibat semakin banyak asam organik yang dihasilkan sebagai hasil metabolisme BAL. BAL mampu tumbuh pada media pati karena menghasilkan amilase yang mendegradasi pati menjadi glukosa. Selanjutnya, glukosa akan dikonversi menjadi asam organik (terutama asam laktat). BAL yang menghasilkan dua molekul asam laktat dari fermentasi glukosa disebut BAL homofermentatif, sedangkan BAL yang menghasilkan satu molekul asam laktat dan satu molekul etanol serta satu molekul karbon dioksida disebut BAL heterofermentatif (Reddy *et al.*, 2008).



(a)



(b)



Gambar 3. (a) Kadar asam laktat, (b) nilai pH, dan (c) jumlah BAL selama proses fermentasi umbi gadung

Keterangan: KP: kontrol parut, PP: perlakuan parut, KG: kontrol potong, PG: perlakuan potong

Kemampuan BAL dalam menggunakan karbohidrat kompleks berupa substrat pati sebagai satu-satunya sumber karbon ditunjukkan dengan naiknya jumlah BAL selama proses fermentasi pada perlakuan parut dan potong (Gambar 3 c). Peningkatan jumlah BAL terjadi sampai hari ke-2 untuk perlakuan umbi yang diparut, sedangkan untuk umbi yang dipotong kenaikan BAL masih terjadi sampai hari ke-3. Hal ini disebabkan karena pada perlakuan umbi

yang diparut struktur fisik umbi lebih sederhana dibandingkan dengan perlakuan potong. Di samping itu permukaan kontakannya juga lebih luas sehingga umbi yang diparut jauh lebih mudah dimanfaatkan oleh BAL sebagai sumber karbon yang menunjang pertumbuhannya. Adanya peningkatan jumlah BAL pada kontrol baik pada umbi yang diparut maupun dipotong menunjukkan adanya BAL indigenous yang berasal dari umbi.

Tabel 2. Analisis proksimat, HCN, Kadar asam laktat dan pH tepung gadung modifikasi

Sampel	Kadar (% basis kering)					HCN (ppm)	Total Asam (mg/g)	pH
	Air	Abu	Lemak	Protein	Karbohidrat			
KP	6,89 ^a	0,34 ^a	0,39 ^a	2,96 ^a	89,42 ^a	12,67 ^a	0,072 ^a	7,21 ^a
PP	6,54 ^a	0,63 ^b	0,42 ^a	10,3 ^b	82,11 ^b	11,09 ^a	1,675 ^b	4,20 ^b
KG	6,33 ^a	0,54 ^b	0,45 ^a	2,68 ^a	88,84 ^a	15,76 ^b	0,090 ^a	7,77 ^a
PG	7,47 ^b	0,53 ^b	0,48 ^a	9,04 ^b	83,64 ^b	10,63 ^c	0,558 ^c	5,41 ^b

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom untuk setiap parameter analisis menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($\alpha=5\%$), setelah dilakukan uji statistik dengan uji BNT pada SPSS 17.0

KP: kontrol parut, PP: perlakuan parut, KG: kontrol potong, PG: perlakuan potong

Analisis Proksimat, kadar HCN, total asam tertitrasi dan nilai pH tepung gadung fermentasi

Hasil analisis proksimat kandungan nutrisi, HCN, total asam dan nilai pH pada tepung gadung hasil fermentasi diperlihatkan dalam Tabel 2. Kadar air

tepung hasil fermentasi (tepung modifikasi) dengan perlakuan parut yaitu 6,54%, sedangkan perlakuan potong sebesar 7,47%. Kedua nilai tersebut memenuhi standar kadar air untuk tepung modifikasi menurut SNI (maksimal 13%). Kadar abu maksimal untuk tepung mocaf menurut SNI

sebesar 1,5 sedangkan kadar abu tepung gadung modifikasi pada penelitian ini sebesar 0,63 (perlakuan parut) dan 0,53 (perlakuan potong) sehingga masih memenuhi standar SNI (Badan Standarisasi Nasional, 2011).

Penambahan BAL pada proses fermentasi dapat menurunkan kadar HCN tepung modifikasi. Hal ini ditunjukkan oleh kadar HCN tepung gadung modifikasi hasil fermentasi dengan perlakuan parut dan potong yaitu berturut-turut 11,9 ppm dan 10,63 ppm. Sementara itu kadar HCN pada perlakuan kontrol parut dan potong yaitu berturut-turut 12,67 ppm dan 15,76 ppm lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan fermentasi. Dengan demikian, fermentasi dapat menurunkan HCN pada tepung gadung modifikasi dengan perlakuan potong dan parut masing-masing sebesar 12,67% dan 32,55%. Akan tetapi penurunan kadar HCN yang dihasilkan selama fermentasi BAL masih tidak signifikan untuk memenuhi persyaratan kadar HCN sebagaimana yang dipersyaratkan oleh SNI tepung mocaf (maksimal sebesar 1,0 ppm). Kumoro dan Hartati (2015) melaporkan bahwa treatment pemberian asam sitrat dengan pemanasan microwave 80 °C selama 40 menit diperlukan agar kadar sianida pada tepung gadung modifikasi dapat direduksi dengan lebih signifikan.

Perlakuan fermentasi BAL juga menyebabkan peningkatan kadar protein

secara signifikan ($p < 0,05$) baik pada tepung gadung modifikasi dengan perlakuan parut maupun potong (Tabel 2). Peningkatan kadar protein disebabkan karena selama fermentasi, isolat BAL akan menghasilkan peptidoglikan pada dinding selnya yang tersusun atas komponen glikoprotein dan lipoprotein (Reddy *et al.*, 2008). Komponen protein inilah yang terkandung dan teranalisis dalam tepung gadung modifikasi. Fermentasi BAL berdampak terhadap peningkatan sedikit kadar lemak pada tepung gadung modifikasi meskipun nilainya tidak signifikan ($p < 0,05$) (Tabel 2).

Penurunan kadar karbohidrat secara signifikan ($p < 0,05$) juga terjadi pada tepung gadung modifikasi yang diberi perlakuan fermentasi BAL baik yang diproduksi dengan dipotong maupun diparut. Penurunan karbohidrat terjadi karena selama fermentasi, isolat BAL akan memanfaatkan komponen karbohidrat berupa amilosa dan amilopektin sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya (Bhanwar dan Ganguli, 2014). Fermentasi BAL juga meningkatkan kadar total asam secara signifikan ($p < 0,05$) pada tepung gadung modifikasi baik pada perlakuan parut maupun potong. Peningkatan kadar total asam berkorelasi terhadap penurunan nilai pH secara signifikan ($p < 0,05$) dari tepung gadung modifikasi baik untuk perlakuan parut maupun potong (Tabel 2).

Tabel 3. Hasil analisis amilografi pada tepung gadung modifikasi dengan perlakuan parut dan potong

Perlakuan	Waktu gelatifikasi (menit)	Suhu gelatinisasi (°C)	Waktu puncak (menit)	Suhu puncak (°C)	Viskositas puncak (BU)	Viskositas 93 °C	Viskositas 93 °C /20'	Viskositas 50 °C	Set Back Viscosity (BU)
KP	36	84,0	-	-	-	110	200	320	(+)120
PP	36	84,0	-	-	-	40	60	100	(+)40
KG	34	81,0	-	-	-	80	150	230	(+)80
KG	34	81,0	-	-	-	50	70	100	(+)30

Keterangan: KP: kontrol parut, PP: perlakuan fermentasi parut, KG: kontrol potong, PG: perlakuan fermentasi potong
 - : Data tidak terdeteksi pada amilogram

Karakteristik Amilografi dan Profil Gelatinisasi Tepung Gadung Modifikasi

Berdasarkan hasil analisis amilograph tepung gadung fermentasi dengan instrumen *viscograph brabender* diperoleh beberapa informasi sebagaimana yang tercantum dalam Tabel 3. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada suhu awal gelatinisasi tampak tidak ada perbedaan yang signifikan dari keempat perlakuan tersebut karena kisaran suhu gelatinisasinya berada pada 81-84°C. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan fermentasi tidak mampu meningkatkan suhu awal gelatinisasi secara signifikan sehingga tidak dapat menurunkan viskositas maksimum gelatinisasi tepung gadung modifikasi (Marston *et al.*, 2014). Sebagaimana diketahui bahwa pada saat pati tepung gadung tergelatinisasi maka akan mulai terjadi peningkatan viskositas dari granula pati gadung yang bersifat irreversible, akibatnya pada saat pati gadung telah tergelatinisasi maka sifat Maltose cross (*birefringence*) dari granula pati gadung tersebut akan hilang (Kusnandar, 2010).

Pada saat tergelatinisasi maka struktur amilosa pati mulai berdifusi keluar dari granula akibat putusannya ikatan hidrogen antara amilosa maupun amilopektin. Hal ini diikuti dengan peningkatan viskositas sampai pada puncaknya sehingga struktur granula pati gadung akan pecah dan membentuk pasta pati gadung ketika dipanaskan hingga mencapai suhu 93 °C (Marston *et al.*, 2014). Selanjutnya proses *holding* (penahanan) selama 20 menit pada suhu 93 °C untuk melihat kestabilan pati gadung terhadap pemanasan. Apabila terjadi penurunan signifikan terhadap viskositas selama proses *holding* 20 menit maka dapat disimpulkan bahwa pati gadung tersebut tidak stabil terhadap pemanasan (Marston *et al.*, 2016). *Setback viscosity* terjadi melalui mekanisme *cooling* (pendinginan) pasta pati gadung dari suhu 93 °C ke suhu 50 °C sampai terbentuk gel (peristiwa gelasi). Idealnya selama proses *cooling* ini terjadi peningkatan viskositas akibat terbentuknya kembali ikatan hidrogen (reasosiasi ikatan hidrogen) antara amilosa dan amilopektin dari pati tepung gadung modifikasi.

Peningkatan viskositas akan meningkatkan kekentalan pasta dari tepung gadung modifikasi yang telah tergelatinisasi sehingga terbentuk gel. Viskositas gel pada suhu 50°C yang meningkat menunjukkan pada akhir proses kemampuan pati tergelatinisasi dalam membentuk struktur gel yang kuat. Pati yang tinggi kandungan amilosa umumnya memiliki viskositas akhir (viskositas pada suhu 50°C) yang lebih tinggi dan dapat dijadikan sebagai bahan baku pembentuk gel dan film serta digunakan untuk bahan baku pembuatan bihun dan mie (Winger *et al.*, 2014). Pati tinggi kandungan amilopektin memiliki viskositas akhir yang lebih rendah, sehingga cocok untuk dijadikan bahan pengental (*thickening agent*) (Trappey *et al.*, 2015).

Berdasarkan data amilography diketahui bahwa tepung gadung kontrol yang dibuat dengan diparut maupun dipotong tanpa diberi perlakuan fermentasi BAL paling stabil terhadap pemanasan. Hal ini dapat ditunjukkan dari peningkatan viskositas tepung gadung kontrol ketika dilakukan *holding* selama 20 menit pada suhu 93 °C, tepung gadung kontrol yang dibuat dengan diparut tanpa perlakuan fermentasi mengalami peningkatan viskositas secara signifikan sebesar 90 BU (Brabender Unit). Sementara itu untuk tepung gadung kontrol yang dibuat dengan dipotong tanpa perlakuan fermentasi terjadi peningkatan viskositas secara signifikan sebesar 70 BU. Semakin tinggi peningkatan viskositas tepung gadung selama dilakukan *holding* 20 menit pada suhu 93 °C menunjukkan bahwa tepung gadung tersebut semakin tahan dan stabil terhadap pemanasan. Perlakuan fermentasi diketahui menurunkan sifat ketahanan panas dari pati gadung. Hal ini ditunjukkan dengan viskositas tepung gadung fermentasi lebih rendah ketika dilakukan *holding* selama 20 menit pada suhu 93 °C.

Berdasarkan parameter *setback viscosity* diketahui bahwa peningkatan viskositas selama proses *cooling* tertinggi ditunjukkan oleh tepung gadung kontrol yang dibuat dengan diparut tanpa perlakuan fermentasi (+120 BU). Selanjutnya diikuti dengan tepung gadung kontrol yang dibuat dengan dipotong tanpa perlakuan fermentasi yaitu (+80 BU). Sementara perlakuan fermentasi BAL justru

menyebabkan nilai *setback viscosity* pati gadung menjadi lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Berdasarkan eksperimen tersebut disimpulkan bahwa perlakuan fermentasi BAL justru menurunkan kemampuan tepung gadung modifikasi dalam melakukan *setback viscosity* untuk membentuk kembali gel pada tahap pendinginan (*cooling*).

Dari seluruh data hasil analisis amilografi dengan Viscograph Brabender diketahui bahwa tepung gadung kontrol yang dibuat dengan diparut tanpa perlakuan fermentasi memiliki profil gelatinisasi yang paling baik (Tabel 3). Hal ini dikarenakan pada perlakuan ini dihasilkan kualitas pati tepung gadung yang paling stabil dan tahan pemanasan serta memiliki kemampuan *setback viscosity* yang baik untuk membentuk struktur gel dari pasta pati yang telah tergelatinisasi. Untuk aplikasinya tepung gadung tersebut dapat disubstitusi dengan tepung terigu, sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan mie, bihun, roti, *cake* yang memerlukan pengolahan dengan proses termal (pemanasan) pada suhu tinggi (Marston *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil seleksi dari 15 isolat BAL dipilih 2 isolat BAL yaitu B291 dan B307 yang memiliki aktivitas enzim amilase paling tinggi dan stabil untuk digunakan sebagai starter dalam fermentasi pembuatan tepung gadung modifikasi. Kadar air dan kadar abu tepung gadung modifikasi telah memenuhi standar kadar air dan kadar abu menurut ketentuan SNI tepung mocaf. Proses fermentasi BAL dapat menurunkan kadar HCN tepung gadung modifikasi, akan tetapi penurunannya masih belum memenuhi persyaratan SNI. Perlakuan fermentasi BAL menyebabkan peningkatan kadar protein (10,3%), lemak (0,48%) dan total asam (1,675 mg/g), akan tetapi berdampak pada penurunan nilai pH (4,20) dan kadar karbohidrat (82,11%) tepung gadung modifikasi. Tepung gadung kontrol yang dibuat dengan diparut tanpa perlakuan fermentasi memiliki profil gelatinisasi yang paling baik karena paling stabil dan tahan pemanasan serta memiliki kemampuan *setback viscosity* yang baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh dana DIPA Tematik Pusat Penelitian Biologi LIPI 2015. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada ibu Kasirah dan Nety Agustin yang telah membantu baik secara teknis maupun non teknis sehingga penelitian ini berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abiodun, O.A., Akinoso, R. 2014. Effect of delayed harvesting and pre-treatment methods on the antinutritional contents of trifoliate yam flour. *Food Chemistry*. 146 : 515–520.
- Aboubakar, Njintang, Y.N., Scher, J., Mbofung, C.M.F. 2008. Physicochemical, thermal properties and microstructure of six varieties of taro (*Colocasia esculenta L. Schott*) flours and starches. *J of Food Eng*. 86: 294-305.
- Alariya, S.S., Sethi, S., Gupta, S., Lal, G.B. 2013. Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil. *Arch Appl Sci Res*. 5: 15-24.
- Amandikwa, C., Iweb, M.O., Uzomaha, A., Olawunia, A.I. 2015. Physicochemical properties of wheat-yam flour composite bread. *Nigerian Food Journal*. 33: 12–17.
- AOAC. Official methods of analysis of association of official analytical chemists (18th ed.) Methods 942.05, 990.03, 920.39, 962.09 Gaithersburg, MD; 2005.
- Badan Standardisasi Nasional. 1992. *Cara uji makanan dan minuman*. Jakarta. Standarisasi Nasional Indonesia.
- Badan Standardisasi Nasional. 2011. *Tepung mocaf sebagai bahan makanan SNI 7622-2011*. Jakarta. BSN.
- Bhanwar, S., Ganguli, A. 2014. α -amylase and β -galactosidase production on potato starch waste by *Lactococcus lactis* subsp *lactis* isolated from pickled yam. *J Sci Ind Res*. 73: 324-330.

- Falade, K.O., Ayetigbo, O.E. 2015. Effects of annealing, acid hydrolysis and citric acid modifications on physical and functional properties of starches from four yam (*Dioscorea* spp.) cultivars. *Food Hydrocolloids*. 43: 529-539.
- Huang, H., Jiang, Q., Chen, Y., Li, X., Mao, X., Chen, X., Huang, L., Gao, W. 2016. Preparation, physicochemical characterization and biological activities of two modified starches from yam (*Dioscorea Opposita* Thunb.). *Food Hydrocolloids*. 55: 244-253.
- Kumoro, A.C., Hartati, I. 2015. Microwave Assisted Extraction of Dioscorin from Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) Tuber Flour. *Procedia Chemistry*. 14: 47–55.
- Kusnandar, F. 2010. *Kimia Pangan Komponen Makro*. Jakarta. Dian Rakyat.
- Kusumayanti, H., Handayani, N.A., Santosa, H. 2015. Swelling power and water solubility of cassava and sweet potatoes flour. *Procedia Environmental Sciences*. 23: 164 – 167.
- Marston, K., Khouryieh, H., Aramouni, F. 2014. Evaluation of sorghum flour functionality and quality characteristics of gluten-free bread and cake as influenced by ozone treatment. *Food Science and Technology International*. 63: 250-258.
- Marston, K., Khouryieh, H., Aramouni, F. 2016. Effect of heat treatment of sorghum flour on the functional properties of gluten-free bread and cake. *LWT - Food Science and Technology*. 65: 637-644.
- Medoua, G.N., Mbomea, I.L., Agbor-Egbe, T., Mbofung, C.M.F. 2008. Influence of fermentation on some quality characteristics of trifoliolate yam (*Dioscorea dumetorum*) hardened tubers. *Food Chemistry*. 107: 1180–1186.
- Moradi, M., Shariati, P., Tabandeh, F., Yakhchali, B., Khaniki, G.B. 2014. Screening and isolation of powerful amyolytic bacterial strains. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*. 3: 758-768.
- Pokhrel, B., Wanjare, P., Singh, S., Purushotham, B., Kumara, S.W.. 2013. Isolation, screening and characterization of promising alfa-amylase producing bacteria from sewage enriched soil. *Int J Adv Biotechnol Res*. 4: 286-290.
- Ramón, A.P., Taschetto, L., Lunelli, F., Mezdari, E.T., Souza, M., Foletto, E.L, Jahn, S.L., Kuhn, R.C., Mazutti, M.A. 2015. Ultrasound-assisted acid and enzymatic hydrolysis of yam (*Dioscorea* sp.) for the production of fermentable sugars. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 4: 98–102.
- Reddy, G., Altaf, M.D., Naveena, B.J., Venkateshwar, M., Kumar, E.V. 2008. Amyolytic bacterial lactic acid fermentation-Areview. *Biotechnol Adv*. 26: 22–34.
- Trappey, E.F., Khouryieh, H., Aramouni, F., Herald, T. 2015. Effect of sorghum flour composition and particle size on quality properties of gluten-free bread. *Food Science and Technology International*. 21: 188-202.
- Umoh, E.O., Iwe, M.O. 2014. Effects of Processing on the Nutrient Composition of False Yam (*Ipomoea trichantha*) Flour. *NIFOJ*. 32 (2): 1 – 7.
- Winger, M., Khouryieh, H., Aramouni, F., Herald, T.J. 2014. Sorghum flour characterization and evaluation in gluten-free flour tortilla. *Journal of Food Quality*. 37: 95-106.