

Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak

Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak



Anton Rahmadi adalah dosen di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia. Gelar PhD diperoleh pada tahun 2013 dari Fakultas Kedokteran, University of Western Sydney, Australia dengan penghargaan *Best Presenter in Session* pada PhD Annual Research Forum 2012. Sebelumnya, ia dianugerahi dengan M.Sc dari University of New South Wales, Australia di bidang Ilmu dan Teknologi Pangan pada tahun 2008 dengan High Distinction dalam Research Project. Sarjana Teknologi Pertanian diselesaikannya di Institut Pertanian Bogor, Indonesia dengan Cum Laude dan mendapat penghargaan sebagai Finalis Mahasiswa Teladan tahun 2001. Saat ini ia adalah KetuaPerhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) cabang Kalimantan Timur. Pada tahun 2016, h-index-nya 4 dan i10-indeks-nya3 dengan total sitasi lebih dari 90. Minat penelitiannya saat ini adalahpangan fungsional, antioksidan dan penanganan pascapanen dari produk olahan lokal.

ANTON RAHMADI

Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak



ANTON RAHMADI

Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak

Penulis : Anton Rahmadi

Editor : Bayu

Desain : Danar Ardy P

ISBN : 978-602-6834-87-4

©2019. **Mulawarman University Press**

Edisi : Maret 2019

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang.

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

Isi di luar tanggung jawab percetakan.

Rahmadi, Anton, dkk. 2018. *Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak*. Mulawarman University Press. Samarinda



**Mulawarman
University PRESS**

Penerbit

Mulawarman University PRESS

Gedung LP2M Universitas Mulawarman

Jl. Krayan, Kampus Gunung Kelua

Samarinda – Kalimantan Timur – Indonesia 75123

Telp/Fax (0541) 747432, Email : mup@lppm.unmul.ac.id

This breath imbibes only with purposeful activities

to my beloved family:

Fitria, Fathimah, Fiqra, and Fudail

and

to my supervisors:

Betty Sri Laksmi Jenie, Graham Fleet, and Gerald Muench

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
Peranan Bakteri Asam Laktat Bagi Pangan dan Kehidupan Manusia.....	2
Pendahuluan	2
Karakteristik BAL.....	3
Sintesis Asam Laktat.....	4
Kemampuan Bertahan Hidup BAL.....	5
Kegunaan BAL.....	10
BAL sebagai sumber Probiotik dan Prebiotik	10
BAL sebagai sumber bakteriosin.....	11
BAL sebagai sumber antioksidan	13
BAL sebagai diet penunjang <i>life-style</i>	17
Jejak Pemanfaatan BAL di Pangan Lokal Kalimantan	20
Produk Fermentasi Lokal Kalimantan Timur	23
Pendahuluan	23
VCO	23
Mandai Cempedak	25
Jaruk Tegarun dan Asam Kopak	28
Tempoyak Durian.....	30
Biji Kakao	31
Telu' Ikan.....	35
Fermentasi Bakteri Asam Laktat	38
Fermentasi	38
Bakteri Asam Laktat	40
<i>Lb. plantarum</i>	43

<i>Lb. casei</i>	44
Fermentasi BAL.....	45
Tipe Fermentasi BAL.....	46
Kinetika Pertumbuhan BAL.....	49
Media Tumbuh BAL.....	52
Metabolit Sekunder BAL.....	52
Kapasitas Antibakteri Isolat BAL.....	53
Kapasitas Antioksidan Produk Fermentasi BAL.....	55
Peningkatan Kualitas Fungsional Produk Fermentasi Lokal dengan Kultur Pemula.....	58
Pendahuluan.....	58
Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi.....	61
Fermentasi Alami.....	61
Syarat-syarat terjadinya fermentasi.....	63
Faktor Intrinsik.....	64
Faktor Ekstrinsik.....	72
Teknologi Kultur Pemula.....	75
Fermentasi Induktif Terkontrol.....	75
Fermentasi Induktif BAL Meningkatkan Kandungan Antioksidan.....	79
Rangkuman sifat fungsional produk makanan lokal hasil fermentasi.....	82
Upaya Modernisasi Pangan Lokal Hasil Fermentasi.....	84
Sanitasi dan higiene pekerja.....	85
Penggunaan panas untuk menghambat bakteri patogen.....	86
Penambahan kultur pemula.....	86
Penambahan senyawa stimulan.....	88

Penggunaan aerasi dan pengadukan.....	88
Perlakuan awal penghilangan senyawa non-nutrisi	89
Kesimpulan	89
Polifenol Sebagai Sumber Antioksidan Produk Fermentasi BAL	
Asal Tumbuhan	92
Pendahuluan	92
Senyawa Fenolik	93
Tanin	93
Flavonoid	94
Radikal Bebas dan Antioksidan	95
Radikal Bebas	95
Antioksidan.....	97
Cempedak dan Mandai Cempedak sebagai Sumber Antioksidan	100
<i>Artocarpus</i>	100
<i>Artocarpus integer</i>	103
Mandai	107
<i>Mandai</i> dengan Garam.....	108
<i>Mandai</i> Rendah Garam.....	108
Mandai Tanpa Garam	110
Aktivitas Antioksidan Bubuk Mandai Cempedak.....	111
Profil Perubahan Populasi BAL, dan pH pada Fermentasi Suhu	
Optimum Mandai Cempedak Higienis Tanpa Garam	115
Pendahuluan	115
Pengolahan Mandai Cempedak Tanpa Garam	116
Pertumbuhan Bakteri dalam Fermentasi Mandai	117

Fitokimia dan Modulasi Antioksidan dari Fermentasi Spontan dan Induksi <i>Lb. casei</i> pada Fermentasi Suhu Optimum Mandai Cempedak.....	120
Pendahuluan	120
Fitokimia dan aktivitas antioksidan mandai.....	122
Korelasi Aktivitas Antioksidan Dengan Kandungan Senyawa Polifenol.....	126
Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Populasi BAL, Fitokimia, dan Antioksidan Mandai Cempedak	129
Pendahuluan	129
Kinetika Pertumbuhan BAL.....	130
Total Bakteri	130
Total Bakteri Asam Laktat.....	132
Populasi BAL dan non BAL	133
Total Bakteri Asam Laktat terhadap pH	135
Peningkatan Kadar Fenolik, Flavonoid, Tanin dan Aktivitas Antioksidan	137
Kadar Fenolik	137
Total Flavonoid.....	140
Total Tanin.....	141
Aktivitas Antioksidan	143
Laju Pengeringan Mandai Cempedak.....	146
Pendahuluan	146
Teknik Pengeringan	148
Daftar Pustaka	154

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rata-Rata Zona Hambatan dari Perlakuan Produksi VCO-BAL terhadap Bakteri Uji E. coli.....	25
Tabel 2. Pangan Lokal Kalimantan Hasil Fermentasi BAL.....	36
Tabel 3 Fermentasi Suksesif pada Biji Kakao	62
Tabel 4 Beberapa Kisaran Aw Minimum untuk Kelompok Mikroba dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal.....	66
Tabel 5 Beberapa Kisaran pH Minuman untuk Kelompok Mikroba dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal.....	69
Tabel 6 Kelompok Mikroba dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal dilihat dari Kemampuan Memanfaatkan Oksigen dan Potensial Redoksnya.....	71
Tabel 7 Mikroba Penting dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal menurut Temperatur Fermentasinya	74
Tabel 8 Peningkatan Sifat Fungsional Produk Makanan Lokal Hasil Fermentasi dengan Kultur Pemula	83
Tabel 9 Perbandingan Metode Uji Kapasitas Antioksidan berdasarkan Kemudahan Analisis, Penggunaan Instrumen, Relevansi Biologis, Mekanisme, Endpoint, dan Pembedaan terhadap Aktivitas Antioksidan Hidrofilik/Lipofilik	104
Tabel 10. Komposisi Proksimat Buah Cempedak* (Nutrisi per 100 gram)	104
Tabel 11. Komposisi Proksimat Buah Cempedak* (Nutrisi per 100 gram)	104
Tabel 10. Komposisi Proksimat Buah Cempedak* (Nutrisi per 100 gram).....	104
Tabel 12 Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada A. Integer.....	113
Tabel 13 Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada Bubuk Mandai dengan perlakuan suhu pengeringan	114

Tabel 14 Rekapitulasi Rata-rata nilai fitokimia mandai selama fermentasi.....124

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Perubahan komposisi bahan setelah fermentasi BAL pada produk berbasis gandum	19
Gambar 2.	Perubahan total flavonoid dan potensi aktivitas antioksidan terhadap reduksi DPPH pada fermentasi mandai cempedak higienis tanpa garam pada suhu 37 °C.	27
Gambar 3.	Bunga Tegarun dan Asam Kopak	29
Gambar 4.	Jalur Fermentasi Homofermentatif Asam Laktat	48
Gambar 5.	Jalur Fermentasi Heterofermentatif Asam Laktat	49
Gambar 6.	Pengaruh asam terdisosiasi terhadap sel mikroba dalam proses fermentasi produk pangan tradisional	68
Gambar 7.	Pertumbuhan kultur pemula pada mandai cempedak di suhu 37 °C.....	77
Gambar 8.	Kontrol nutrisi pada proses fermentasi mentega dengan pengaturan nutrisi awal	79
Gambar 9.	Proses Resonansi Senyawa Fenolik	93
Gambar 10.	Struktur Kimia Senyawa Tanin.....	94
Gambar 11.	Struktur Kimia Flavon	95
Gambar 12.	Langkah - Langkah Reduksi Satu Elektron pada Oksigen.	97
Gambar 13.	Mandai	107
Gambar 14	Populasi BAL dan non-BAL pada fermentasi mandai cempedak higienis tanpa garam pada suhu 37 °C.....	118
Gambar 15	Perubahan pH dan populasi BAL pada fermentasi mandai cempedak higienis tanpa garam pada suhu 37 °C.....	119
Gambar 16	Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC ₅₀ dan Total Fenol	126
Gambar 17.	Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC ₅₀ dan Total Tanin	127

Gambar 18. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC ₅₀ dan Total Flavonoid.....	127
Gambar 19. Pertumbuhan Total Bakteri Mandai Higienis Tanpa Garam dengan Penambahan Lb. casei	131
Gambar 20. Pertumbuhan Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Mandai Higienis Tanpa Garam dengan Penambahan Lb. casei ...	132
Gambar 21. Grafik Perbandingan Pertumbuhan Total Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Total Non BAL Mandai Higienis Tanpa Garam dengan Penambahan Lb. casei	134
Gambar 22. Korelasi pertumbuhan BAL pada fermentasi mandai dengan penambahan Lb. casei terhadap pH.....	136
Gambar 23. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Total Fenol Mandai	138
Gambar 24. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Total Flavonoid Mandai	141
Gambar 25. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Total Tanin Mandai	142
Gambar 26. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC ₅₀ Mandai	145
Gambar 27. Grafik ln(MR) pengeringan mandai.....	150

PERANAN BAKTERI ASAM LAKTAT BAGI PANGAN DAN KEHIDUPAN MANUSIA

Anton Rahmadi¹, Aswita Emmawati¹, Bernatal Saragih¹, Betty Sri Laksmi Jenie²

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman

2) Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

PENDAHULUAN

Sejarah pemanfaatan Bakteri Asam Laktat (BAL) mungkin sama tuanya dengan peradaban manusia itu sendiri. BAL telah berhasil diisolasi dari berbagai belahan dunia dengan iklim, cuaca, kelembaban, dan tinggi-rendah permukaan bumi. Isolat-isolat tersebut didapatkan dari berbagai tanaman, buah-buahan, dan hewan. Ini menunjukkan bahwa BAL termasuk kelompok bakteri yang memiliki ketahananhidupan secara fisiologis, biologis, dan molekuler yang tinggi, atau dikenal dengan istilah kelompok bakteri *ubiquitous*. Bab ini disusun untuk memberikan pengetahuan terbaru seputar perkembangan riset BAL dilihat dari karakteristik, keunggulan, sintesis asam laktat, kemampuan bertahan hidup, kegunaan-kegunaan BAL, dan contoh-contoh pemanfaatan BAL di Kalimantan.

KARAKTERISTIK BAL

BAL memiliki karakteristik yang khas, yaitu berukuran sedikit lebih besar dibandingkan bakteri-bakteri lain pada umumnya dengan bentuk mikroskopis lonjong, batang, bulat maupun koma. Seluruh BAL termasuk bakteri Gram positif, artinya memiliki dinding peptidoglikan yang tersusun dari peptida (asam-asam amino) dan glikan (karbohidrat) (Zoumpopoulou et al, 2017). Karakteristik lain yang khas dari BAL adalah tidak berspora dan pada umumnya tidak ber-flagella (Cousin et al. 2015). BAL pada umumnya ditemukan bergerombol dalam bentuk-bentuk tertentu (Ni et al 2015). BAL memiliki kemampuan mengkatalisis H_2O_2 menjadi O_2 dan H_2O . Ciri yang membedakan BAL dari kelompok bakteri penghasil asam yang lain adalah kemampuan BAL yang secara cepat mampu mengonversi sumber gula, utamanya laktosa, menjadi asam laktat. Oleh karena itu, BAL yang teridentifikasi pada awal mula perkembangan keilmuannya adalah dari kelompok yang biasa ditemukan di produk olahan susu. Produk dengan aroma khas, yaitu asam laktat dan aroma-aroma pendamping yang lain seperti keton dan aldehida adalah pembeda utama dengan produk yang dihasilkan dari famili *Propionibacteriaceae* dan *Acetobacteriaceae* (Helinck et al, 2004; Schulz dan Dickschat, 2007; Lonvaud-Funel, 1999; Montel et al, 1998)..

BAL memiliki beberapa keunggulan, yaitu: 1) BAL dapat menghasilkan senyawa yang memberikan rasa dan aroma spesifik pada

makanan fermentasi (Nsogning et al, 2017); 2) BAL meningkatkan nilai cerna pada makanan fermentasi karena dapat melakukan pemotongan pada bahan makanan yang sulit dicerna sehingga dapat langsung diserap oleh tubuh, misalnya protein diubah menjadi peptida-peptida dan asam-asam amino (Ali, 2010); 3) BAL menghasilkan asam laktat yang dapat terakumulasi pada lingkungan di sekitarnya, sehingga menyebabkan mikroba patogen dan pembusuk yang umumnya hidup pada rentang toleransi pH yang lebih tinggi tidak dapat tumbuh. BAL juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain seperti bakteri pembusuk dan bakteri patogen pada produk pangan serta produk fermentasi lainnya (Nuraida, 2015). Senyawa-senyawa anti mikroba yang dihasilkan BAL antara lain: asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2), karbon dioksida (CO_2), dan bakteriosin (De dan Leroy, 2007). BAL secara terbatas menghasilkan komponen anti jamur seperti asam fenilaktik, reuterin, hidrogen peroksida, dan peptide-peptida dalam formasi siklik seperti cyclo-(Phe-Pro), cyclo-(Phe-OH-Pro), dan cyclo-(Gly-L-Leu) (Valerio et al, 2004; Dalie, 2010).

SINTESIS ASAM LAKTAT

Menurut Suprihatin (2010), BAL dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan jenisnya. BAL dengan kelompok homofermentatif adalah BAL yang menghasilkan jenis asam laktat dari metabolisme gula.

Fermentasi homofermentatif menghasilkan asam laktat dalam jumlah berlimpah. Prosesnya dimulai dari perombakan glukosa dengan dibantu enzim aldolase yang ujungnya adalah menjadi gliseraldehid-3-P dan dihidroksiakton-P. Kemudian, gliseraldehid-3-P dirombak menjadi asam piruvat. Satu molekul asam piruvat selanjutnya dikonversi menjadi dua molekul asam laktat.

Di lain pihak, fermentasi heterofermentatif melibatkan enzim fosfoketolase dengan hasil akhir gliseraldehid-3-P dan asetil-fosfat. Senyawa asetil-fosfat ini yang kemudian dikonversi menjadi asetaldehid dan berakhir sebagai etanol, asam cuka, dan produk samping lainnya (Surono, 2004). BAL dengan spesies heterofermentatif, menghasilkan senyawa anti mikroba yang lebih beragam (Rohani, 2010). Sekalipun fermentasi yang dilalui adalah bertipe heterofermentatif, produksi asam laktat tetap mendominasi metabolit dari BAL. Penjelasan lebih lengkap tentang sintesis asam laktat berada di Bab II.

KEMAMPUAN BERTAHAN HIDUP BAL

Dilihat dari sisi kebertahanhidupan secara fisiologis, BAL secara kompetitif mampu bersaing tumbuh menjadi bakteri yang dominan pada kondisi cekaman mineral, seperti garam NaCl, yang lebih tinggi dibandingkan bakteri-bakteri lainnya (Singracha et al, 2017). Ini ditemukan pada fermentasi spontan ikan-ikan laut (Hwanhlem et al, 2011);

(Balcázar et al, 2008). BAL dapat pula tumbuh dan berkembang sebagai bagian dari proses fermentasi suksesif dengan menunjukkan ketahanan pada keadaan fisiologis media yang asam maupun beralkohol hingga tingkat tertentu, misalnya pada fermentasi biji kakao (Rahmadi dan Fleet, 2008). BAL juga mampu bertahan hidup dengan berdormansi pada kondisi lingkungan yang kering atau RH yang rendah, lalu berejuvinsi saat kondisi lebih memungkinkan, sebagaimana yang ditemukan di produk buah-buahan kering (Garcia et al, 2016) dan fermentasi padat Telu' ikan asal suku Dayak (Rahmadi et al, 2018). Secara terbatas, BAL mampu bertahan pada media tinggi lemak sebagaimana ditunjukkan pada fermentasi spontan VCO-BAL (Rahmadi et al, 2013). Beberapa BAL terbukti mampu bertahan pada proses pemanasan rendah dan sedang, misalnya blansir dan pasteurisasi, sebagai akibat adanya protein-protein tahan panas dalam sel bakteri tersebut yang melindungi BAL dari kerusakan akibat panas (Papadimitriou et al, 2016). Sebaliknya, BAL juga memiliki protein-protein yang mampu memproteksi dirinya dari suhu lingkungan yang dingin (Wouters et al, 2000). Di dalam tubuh, BAL mampu bertahan melewati sistem pencernaan yang ber-pH ekstrem, di mana keasaman lambung adalah pada pH 1.5 ± 0.5 (Reyes-Nava, 2015). Kemampuan ini menyebabkan BAL dapat bertahan hidup dan kemudian tumbuh berkembang di dalam perut manusia maupun hewan untuk menekan bakteri-bakteri patogen (Adeniyi, 2015; Gutiérrez, 2016).

Beberapa spesies BAL menghasilkan ekso-polisakarida yang berfungsi untuk memberikan proteksi tambahan maupun kemampuan mengikat terhadap logam dan kaca (Patel, 2011).

Selain enzim, BAL memiliki siklus pemanfaatan energi dengan beberapa mekanisme alternatif, sekalipun ujung dari proses fermentasi BAL secara dominan adalah asam laktat. Mekanisme menghasilkan energi yang dikenali dari BAL secara tidak terbatas terdiri dari (1) siklus karbohidrat sederhana melalui jalur krebs (Zaunmüller et al, 2006); (2) siklus oksidasi glukosa (Yamazaki et al, 2002); (3) siklus asam sitrat melalui jalur EMP (Papagianni, 2012; Mousavi et al, 2011) (4) siklus nitrogen misalnya amonifikasi, nitrifikasi, dan denitrifikasi (Sun et al, 2011); (5) siklus glioksilat yang bekerja berdasarkan oksidasi asam lemak (Berg et al, 2002), dan (6) siklus transportasi elektron sebagai akibat proses fosforilasi oksidatif (Brooijmans et al, 2009).

BAL menghasilkan asam laktat dan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri kompetitor (Perez et al, 2014). Asam laktat merupakan asam organik terdisosiasi yang mampu menurunkan pH lingkungan menjadi sekitar 4 ± 0.5 (Gambar 1). Derajat keasaman yang rendah menyebabkan bakteri-bakteri kompetitor tidak tahan asam menjadi kesulitan untuk mempertahankan siklus energinya sekaligus membuat bakteri-bakteri tersebut kehabisan energi seluler dengan cepat karena

menjaga keseimbangan ion H^+ di dalam sitoplasma (Yang et al, 2014; Eswaranandam et al, 2006).

BAL secara biologis mengembangkan kemampuan bertahan hidupnya dengan menghasilkan enzim-enzim yang mampu memecah berbagai jenis substrat. Sebagai contoh, *Lactobacillus casei*, sekalipun dari kelompok bakteri susu, ternyata mampu tumbuh berkembang pada produk olahan cempedak tanpa penambahan media stimulan seperti laktosa ataupun gula sederhana (Rahmadi et al, 2017). Ini disebabkan *Lb. casei* memiliki enzim-enzim seperti *amylase*, *lactate dehydrogenases*, *peptidases*, dan *proteinase*. *Lactobacillus plantarum* memiliki enzim-enzim dalam spektrum yang luas seperti *amylase*, *β -glucosidase*, *decarboxylase*, *lactate dehydrogenases*, *peptidases*, *phenolic acid decarboxylases*, *phenol reductase*, *proteinase*, dan *tannase* (Hur et al, 2014; Siezen et al, 2012). Artinya, enzim-enzim ini membantu BAL untuk memanfaatkan substrat dalam menjaga kemampuan bertahan hidupnya.

Bakteriosin merupakan peptida sederhana yang bersifat toksin bagi bakteri-bakteri lain. Hampir semua kelompok BAL memiliki bakteriosin dengan keefektifan yang berbeda-beda (Yang et al, 2014). Sebagai contoh, plantarisin dihasilkan dari *Lb. plantarum* ternyata hanya memiliki keefektifan separuh dari bakteriosin hidrofobik yang dihasilkan *Lb. casei* dalam VCO-BAL (Rahmadi et al, 2013). Nisin merupakan bakteriosin

yang telah memiliki izin edar dan telah dimanfaatkan secara komersial sebagai pengawet makanan (Trotter et al, 2004).

BAL merupakan kelompok bakteri yang diketahui mampu bertahan terhadap anti mikroba yang dihasilkan oleh mikroba lain. Ini dibuktikan dari gen resistan seperti anti tetrasiklin, anti eritromisin dan anti vankomisin yang berhasil diisolasi dari *Lactococcus lactis*, *Enterococci* dan beberapa *Lactobacillus* yang diisolasi dari susu dan daging (Mathur dan Singh, 2005).

Secara molekuler, BAL menghasilkan antioksidan-antioksidan, maupun mereduksi pro-oksidan sehingga bakteri ini mampu bertahan dalam kondisi stres oksidatif (Vietetta et al, 2017). Sebagai contoh, BAL memiliki enzim katalase yang memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air (König dan Fröhlich, 2017). BAL juga memiliki enzim super oksida dismutase yang mampu mengubah radikal bebas super oksida menjadi hidrogen peroksida yang kemudian dideaktivasi dengan enzim katalase (Papadimitriou et al, 2016). BAL memiliki kemampuan anti oksidatif karena mampu mengelasi ion logam sebagaimana ditunjukkan pada *Bifidobacterium longum*. BAL memiliki berbagai reseptor yang mampu mengikat senyawa penginduksi oksidasi yang berasal dari luar maupun yang dihasilkan di dalam sitoplasma. Letak reseptor-reseptor ini dapat berada di permukaan sel maupun melayang-layang di dalam sitoplasma (Lin dan Yen, 1999; Masuda et al, 2008). Fraksi seluler BAL

pun menunjukkan kemampuan anti oksidatif terhadap induksi tumor nekrosis faktor- α (TNF- α) dan interleukin-6 sebagaimana yang terdapat pada *Lactobacillus plantarum* (Haeng-Jeon et al, 2006).

KEGUNAAN BAL

BAL sebagai Sumber Probiotik dan Prebiotik

Syarat-syarat probiotik ditetapkan dengan keketatan yang berbeda oleh para peneliti, akan tetapi pada umumnya menyebutkan syarat umum bahwa bakteri harus mampu bertahan hidup dalam sistem pencernaan tubuh. Parameter-parameter penting terkait sistem pencernaan terdiri dari: 1) toleransi terhadap pH rendah di lambung, kondisi basa di usus kecil, 2) pemecahan oleh enzim-enzim di mulut, lambung dan usus seperti amilase, dan lisozim, 3) kondisi pencernaan di usus yang terdiri dari pemecahan kolesterol, ketidaklarutan dalam air (hidrofobisitas), auto-agregasi, produksi substansi anti mikroba, produksi ekso-polisakarida, aktivitas β -galaktosidase, dan aktivitas haemolitik (Angmo et al, 2016).

Produk probiotik berbasis BAL telah dikomersialisasikan di seluruh dunia. Produk yang paling banyak adalah varian dari yoghurt yang mengandung strain BAL yang diisolasi dari usus seperti *Bifidobacteria spp.* Konsumsi produk ini bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup manusia dengan berdampak pada perubahan mikro biota yang mendiami saluran usus (Gerald dan Tannock, 1997). Sebelum suatu BAL dapat

dikatakan sebagai probiotik, bakteri tersebut perlu untuk diuji kemampuan hidupnya di dalam sistem lambung manusia (Vinderola dan Reinheimer, 2003).

Penelitian untuk menemukan varian-varian probiotik baru terus dilakukan. Sebagai contoh, beberapa strain *Lb. pentosus*, *Lb. plantarum*, dan *Lb. paracasei subsp. paracasei* ditemukan memiliki sifat probiotik *in vitro* yang diinginkan mirip dengan atau bahkan lebih baik daripada strain referensi probiotik *Lb. casei* Shirota dan *Lb. rhamnosus* gg. Uji kemampuan probiotik dari strain-strain ini dilakukan di dalam sistem *in vitro* berbasis CaCO₂ dan dihadapkan dengan bakteri patogen *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, dan *Escherichia coli* O157:H7 (Rgyri et al, 2013).

BAL sebagai Sumber Bakteriosin

Dulunya, bakteriosin diketahui berasal dari senyawa-senyawa protein dengan bobot kecil (s.d. 30 kDa) yang memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri tertentu. Termasuk di dalam bakteriosin adalah senyawa-senyawa yang disekresikan oleh suatu mikroba dengan tujuan menghambat (bakteriostatik) dan mencegah (bakterisidal) pertumbuhan mikroba lain (Todorov et al, 2000). Senyawa bakteriostatik dan bakterisidal yang berhasil dikarakterisasi kebanyakan berupa kelompok

protein tersendiri dan bukan termasuk dalam kelompok sitokin atau kemokin (Kalyoussef et al, 2012).

Dalam perkembangannya, kompleks bakteriosinogenik mungkin saja dalam bentuk gabungan dari gugus heterogen yang esensial, meliputi lipid, karbohidrat, atau kombinasi protein tertentu. Sebagai inhibitor protein, identifikasi protein dilakukan dengan penentuan strain spesifik dan perkiraan massa molekulnya, yaitu dengan metode retensi dalam membran dialisis, ultrafiltrasi, ukuran molekul, atau spektrometri massa. Pengelompokan bakteriosin terdiri dari: 1) Lantibiotik: peptida aktif-membran kecil (<5 kDa) mengandung asam amino *lanthionine*, β -*methyl lanthionine*, dan residu dehidrasinya; 2) Asam amino berukuran kecil, siklik, termo-stabil: *non-lanthionine* mengandung peptida aktif-membran (<10 kDa) yang dicirikan oleh gugus Gly-Gly pada prekursor bakteriosin. Bakteriosin diprediksi membentuk heliks amfifilik dengan gugus hidrofobik dominan, dan struktur β -*sheet* yang stabil pada panas sedang (100 °C) hingga tinggi (121 °C); 3) Protein berbobot lebih dari 30 kDa dan stabil dalam kondisi panas; dan 4) Kompleks-bakteriosin: tersusun dari protein ditambah satu atau lebih molekul kimia (lipid, karbohidrat) yang diperlukan untuk aktivitas menghambat bakteri lain (Klaenhammer, 1993).

BAL sebagai Sumber Antioksidan

Karotenoid merupakan antioksidan dari kelompok lipofilik. BAL memiliki kemampuan dalam melepaskan ikatan gugus-gugus fungsional dari matriks bahan pangan. BAL juga mampu bersimbiosis dengan mikroorganisme lain dalam memproduksi karotenoid. Sebagai contoh, *Rhodotorula rubra* pada awalnya dikenal sebagai kapang yang mengkontaminasi yoghurt dan keju. Akan tetapi persepsi ini mulai berubah, dikarenakan *R. rubra* merupakan salah satu kapang yang mampu mensintesis karotenoid dan tumbuh dengan bersimbiosis mutualisme dengan *Lactobacillus casei*, *Lb. lactis*, *Lb. plantarum*, dan *Lb. helveticus*. Sintesis karotenoid tertinggi didapatkan dari kombinasi *R. rubra* dan *Lb. casei* dengan hasil 2.5 mg/L, dengan pH akhir produk 5,5 s.d. 6,0. Asam laktat merupakan substrat bagi *R. rubra* untuk tumbuh berkembang dan kemudian mensintesis karotenoid. Saat *Lb. casei* mengkonversi laktosa menjadi asam laktat, *R. rubra* mulai tumbuh dengan pesat, sehingga menjadi populasi yang dominan setelah 6 hari. Karakteristik karotenoid yang dihasilkan *R. rubra* adalah β -karoten, torulen, dan torularhodin (Frengova et al, 2014).

Beberapa strain dari *Lb. plantarum* digunakan untuk memfermentasi pasta tomat selama 17 jam pada suhu 25 °C. Kadar klorofil dan likopen yang membentuk warna pasta tomat secara umum meningkat setelah proses fermentasi tersebut. Ini membuktikan bahwa beberapa strain *Lb.*

plantarum mampu secara efektif mengekstrak sekaligus mempertahankan kandungan flavonoid pembentuk warna di pasta tomat. Lebih lanjut, fermentasi tomat oleh semua strain *Lb. plantarum* yang digunakan mampu menjaga stabilitas warna likopen dalam penyimpanan pasta tomat terfermentasi di suhu 4 °C selama lebih 40 hari (Gobbetti, 2009).

Fenolik dan Flavonoid merupakan sumber antioksidan yang pada umumnya berasal dari tumbuhan. BAL diketahui mampu memodulasi kadar fenolik dan flavonoid produk hasil fermentasi asal tumbuhan (Nelson et al, 1995). Sebagai contoh lain, Rahmadi et al (2017) melaporkan kenaikan senyawa fenolik dan flavonoid yang berkorelasi dengan peningkatan potensi antioksidan dalam fermentasi mandai cempedak. Secara khusus, pembahasan fenolik dan flavonoid pada produk fermentasi mandai terdapat dalam bab-bab selanjutnya di buku ini.

Fermentasi selaput kulit beras (*rice bran*) menggunakan *Lb. lactis*, *Pediococcus acidilactici*, dan *P. pentoseus* meningkatkan kadar α -tokoferol sebagai akibat pelepasan senyawa-senyawa tokol (tokoferol dan tokotrienol) dari matriks pangan melalui proses enzimatik (Rashid et al, 2015). Akan tetapi, fermentasi BAL yang kontak dengan udara dan panas akan menyebabkan kadar tokoferol dan tokotrienol menurun (Poutanen et al, 2009), sekalipun potensi antioksidan yang diukur dengan metode DPPH meningkat. Tokoferol merupakan kelompok antioksidan garis depan yang sangat sensitif terhadap pemanasan dan eksposur cahaya. Oleh karena itu,

apabila produk yang difermentasi banyak mengandung senyawa-senyawa dari kelompok tokoferol dan tokotrienol, proses fermentasinya perlu dilakukan dalam kondisi dingin.

Fermentasi jus sayuran oleh BAL ataupun kombinasi BAL dengan kapang mampu mempertahankan kadar vitamin C pada produk akhir (Vakin et al, 2007). Vitamin C merupakan salah satu penyumbang kemampuan antioksidatif yang kuat. Berbeda dengan α -tokoferol dan β -karoten, Vitamin C larut dalam air, sehingga penggunaan Vitamin C sebagai antioksidan dalam produk pangan digunakan untuk produk-produk hidrofilik.

Strain *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* mampu menghasilkan asam folat ekstraseluler dalam jumlah yang cukup signifikan, yaitu mendekati dua kali lipat dibandingkan kadar asam folat pada media sebelum difermentasi. Fenomena ini menjadi tren baru di produk-produk fermentasi berbasis susu semenjak tahun 2011. Keberadaan asam folat diantaranya membantu proses tumbuh kembang janin, mempercepat penyembuhan luka, dan meningkatkan kecerdasan kognitif (Laiño et al, 2012). Salah satu spesies BAL yang mampu menghasilkan asam folat dalam jumlah besar adalah *Lb. amylovorus* dengan konsentrasi $263,1 \pm 2,4$ $\mu\text{g/L}$ yoghurt, atau mampu mencukupi 15% Rekomendasi Asupan Harian untuk setiap porsi yoghurt yang dikonsumsi (Laiño et al, 2014). Asam folat terbukti sebagai

antioksidan terhadap radikal-radikal bebas seperti $\text{CCl}_3\text{O}_2^\bullet$, N_3^\bullet , $\text{SO}_4^{\bullet-}$, $\text{Br}_2^{\bullet-}$, OH , and $\text{O}^{\bullet-}$ (Joshi et al, 2001).

BAL mampu mempertahankan kadar vitamin K pada produk hasil fermentasi propolis dan madu (Vásquez dan Olofsson, 2015). Strain-strain dari *Lac. lactis* subsp. *cremoris*, *Lac. lactis* subsp. *lactis*, dan *Leuconostoc lactis* adalah produsen kuinon yang mampu menghasilkan lebih dari 230 nmol kuinon/g sel kering. Kuinon-kuinon ini tersedia dalam wujud menakuinon (vitamin K2). Vitamin K-hidrokuinon belakangan digunakan sebagai salah satu antioksidan untuk mencegah peroksidasi lipida berbasis asam tiobarbiturat (*thiobarbituric acid reactive substances*, TBARS) (Vervoort et al, 1997).

Peptida antioksidatif didefinisikan sebagai fragmen protein spesifik yang memiliki efek antioksidatif pada fungsi atau kondisi tertentu yang bermanfaat dalam kesehatan. Peptida bioaktif yang umum diproduksi BAL adalah angiotensin I-converting enzyme [ACE]-inhibitory peptides. Terdapat peptida-peptida lain yang diproduksi selama fermentasi BAL, contohnya ekstrak larut air atau larutan garam (*water/salt-soluble extract*, WSE). Peptida-peptida dalam WSE diidentifikasi dengan menggunakan metode o-phtaldialdehyde (OPA) yang diekuivalensikan sebagai tripton. WSE terbukti memiliki potensi antioksidan terhadap autooksidasi asam linoleat (Coda et al, 2012, Pessione dan Cirrincione, 2016). Eksplorasi terhadap peptida-peptida hasil samping fermentasi BAL difokuskan

terhadap perubahan proses pelipatan protein dalam epigenetika, siklus sel, dan kontrol terhadap kematian sel terprogram (apoptosis) (Curiel et al, 2015). BAL juga telah diketahui sebagai agen penyediaan enzim-enzim yang berperan sebagai antioksidan seperti SOD dan GSH (Curiel et al, 2015).

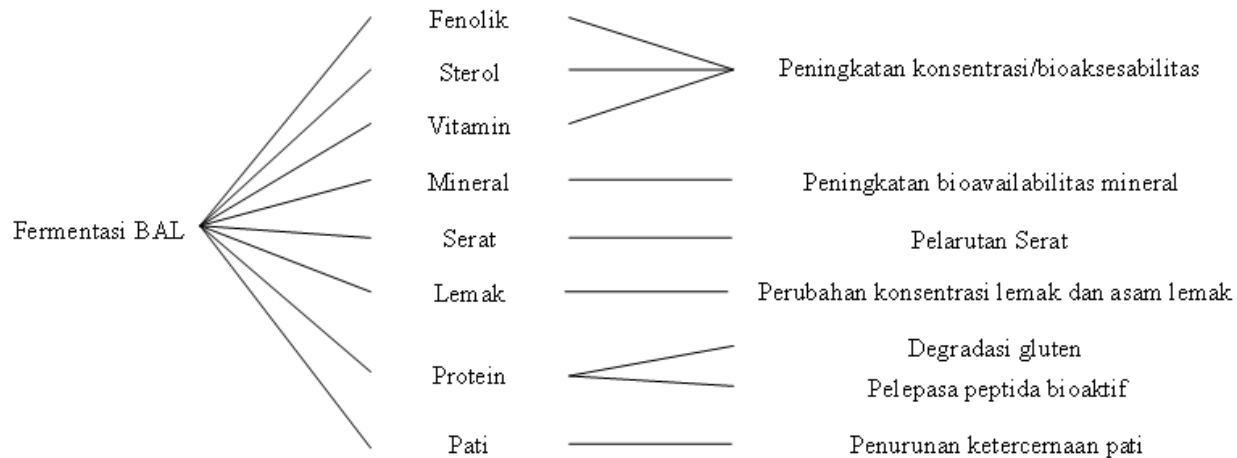
BAL sebagai Diet Penunjang *Life-Style*

Secara umum BAL akan mengubah komposisi dari bahan yang difermentasi. Sebagian besar dari perubahan itu memberikan dampak yang positif bagi diet manusia. Poutanen et al (2009) merangkum beberapa manfaat fermentasi BAL pada produk-produk berbasis gandum seperti yang tampak pada gambar 1.

Potensi BAL sebagai diet anti-obesitas ditunjukkan salah satunya dari spesies *Lb. gasseri* dengan mekanisme pengurangan sintesis lemak. *Lb. gasseri* menurunkan ekspresi mRNA dari protein pengikat elemen pengatur sterol (*sterol regulatory element-binding protein*, SREBP) dan target gen enzim sintase asam lemak (*fatty acid synthase*, FAS) di dalam hati dan menurunkan asam lemak bebas (ALB) di dalam darah (Yonejima et al, 2013).

BAL mampu meningkatkan sintesis vitamin B, utamanya dari kelompok asam folat (Sybesma et al, 2018). Selain asam folat, beberapa BAL dari genus *Bifidobacteria* mampu menghasilkan riboflavin dan

kobalamin melalui jalur pentosa fosfat, biosintesis korismat, dan biosintesis tetrahidrofolat. *Lb. reuteri* memiliki kemampuan menghasilkan pseudo-kobalamin. Tiamin dan Piridoksin, gugus vitamin B lainnya, mampu diproduksi oleh *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* dan *Lb. helveticus* (LeBlanc et al, 2013; Hugenholtz et al, 2002).



Gambar 1. Perubahan komposisi bahan setelah fermentasi BAL pada produk berbasis gandum

Lebih lanjut, BAL mendukung pertumbuhan bakteri lain dalam memproduksi vitamin B. *Propionibacterium freudenreichii* yang tumbuh secara simbiosis mutualisme dengan *Lb. helveticus* telah digunakan sebagai mikroba penghasil vitamin B12 (kobalamin) secara komersial. Peranan *Lb. helveticus* adalah sebagai penyedia asam-asam amino esensial bagi pertumbuhan *P. freudenreichii* (Østlieet al,1995).

JEJAK PEMANFAATAN BAL DI PANGAN LOKAL KALIMANTAN

Beberapa pangan lokal asal Kalimantan telah diketahui memanfaatkan proses fermentasi asam laktat yang terjadi secara spontan dengan bantuan garam, atau sengaja diintroduksi, maupun sebagai akibat fermentasi suksesif yang cukup kompleks. Sebagai contoh, VCO-BAL dihasilkan dari proses ekstraksi minyak *virgin* kelapa dengan bantuan BAL. Secara prinsip, BAL membantu pemecahan santan dengan jalan pemecahan komponen karbohidrat sederhana pada santan dan menurunkan pH, sehingga menyebabkan penggumpalan protein emulsifier alami dan merusak tegangan permukaan dari emulsi santan (Rahmadi *et al*, 2013).

Mandai Cempedak (Nur, 2009; Emmawati *et al*, 2015) diproduksi dari kulit bagian dalam buah cempedak (*Artocarpus champeden*) dengan memanfaatkan garam sebagai sarana selektif pertumbuhan BAL. Secara tradisional, *Mandai Cempedak* digunakan sebagai bahan sayur dan kudapan yang digoreng dengan tepung. BAL yang umum diisolasi dari

produk ini adalah *Lb. plantarum* dan *Leuconostoc sp.* Rahmadi *et al* (2017) telah mengembangkan teknik fermentasi dingin dengan kultur pemula untuk *Mandai Cempedak* dengan kemampuan anti oksidatif yang lebih tinggi dibandingkan dengan fermentasi spontan.

Jaruk Tegarun merupakan produk hasil fermentasi garam BAL dari Bunga Tegarun (*Crataeva nurvala*) (Rahmi *et al*, 2016). Pemanfaatan tradisional dari *Jaruk Tegarun* di masyarakat Kutai dan Banjar adalah sebagai sayur atau penyedap alami. Sebagaimana pada fermentasi *Mandai Cempedak*, *Lb. plantarum* dan *Leuconostoc sp.* adalah BAL yang umumnya diisolasi dari produk ini.

Sambal *Asam Kopak* merupakan produk fermentasi BAL dari *Buah Kopak* (Kutai) atau *Payang* (Dayak) dengan nama latin *Mangifera pajang* yang memiliki ciri khas fermentasi basah dengan garam dan dilanjutkan dengan pengasapan di dalam tabung bambu. Metode ini mengombinasikan flavor yang dibentuk dari fermentasi homofermentatif BAL dan hasil pengasapan di atas kayu bakar. Fermentasi spontan BAL diduga melibatkan *Lb. plantarum* sebagai spesies yang paling umum ditemukan di produk fermentasi BAL dengan media selain susu. Produk akhir dari fermentasi dan pengasapan ini biasanya diramu dan disajikan dalam bentuk sambal.

Penggunaan garam pada fermentasi BAL yang banyak ditemukan bertipe fermentasi basah, misalnya pada *Mandai Cempedak*, *Jaruk*

Tegarun, dan Sambal Asam Kopak. Sedikit berbeda dengan *wadi* atau *pekasam* (peda ikan) yang merupakan fermentasi semi basah di komunitas Banjar dan Kutai, produk tradisional *Telu'* ikan sungai (*Furud*, *Garra sp.*) dari Dayak Lundayeh merupakan contoh fermentasi kering. *Telu'* difermentasi dalam media tepung beras atau singkong yang telah disangrai dengan sebelumnya ditambahkan garam. Metode ini diduga melibatkan BAL, bakteri penghasil spora, khamir, dan kapang.

BAL juga ditemukan dalam banyak proses fermentasi yang bersifat suksesif, atau fermentasi dengan mikro flora dominan dari genus yang berbeda-beda sesuai tahapan pemecahan senyawa-senyawa dalam produk hasil fermentasinya. Sebagai contoh, fermentasi biji kakao secara spontan hampir selalu melibatkan BAL, dimulai pada saat daging buah kakao terekspose dengan udara luar hingga saat sebagian besar matriks karbohidrat menjadi alkohol dan cuka (Rahmadi et al, 2018). Secara lebih khusus, contoh-contoh pemanfaatan BAL di produk lokal asal Kalimantan dibahas pada bab selanjutnya.

PRODUK FERMENTASI LOKAL KALIMANTAN TIMUR

Anton Rahmadi

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas
Mulawarman

PENDAHULUAN

Pangan tradisional produk fermentasi BAL dapat ditemukan di Kalimantan, khususnya Kalimantan Timur. Di Kalimantan Timur dan dunia pada umumnya, BAL banyak digunakan dalam fermentasi tradisional sayuran karena mereka secara alami ada didalamnya. Bakteri ini terdapat dalam jumlah kecil (2.0-4.0 log CFU/g) dari mikro biota asli dalam sayuran mentah dan buah-buahan (Di Cagno *et al*, 2013). Beberapa produk tersebut yang telah menjadi kajian secara intensif yang dirangkum dalam bab ini adalah produk hasil fermentasi BAL, seperti *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan fermentasi BAL, *Mandai Cempedak*, *Jaruk Tegarun*, *Sambal Asam Kopak*, *Telu' Ikan*, tempoyak, dan biji kakao.

VCO

VCO adalah minyak kelapa hasil ekstraksi non-panas dengan tujuan untuk mengurangi dampak perubahan komposisi ataupun karakteristik minyak (APCC, 2009). Sumber VCO adalah santan kelapa, yaitu emulsi

minyak-air dengan pengikat protein, fosfolipid dan gum dalam jumlah terbatas. Pemecahan emulsi tersebut dapat dilakukan dengan bantuan gravitasi ataupun senyawa de-emulsifikasi minyak-air (Nour *et al*, 2009). Santan kelapa mengandung 54% air, 35% lemak, dan 11% padatan non lemak (Tansakul dan Chaisawang, 2006). Penggunaan mikroba dalam proses de-emulsifikasi santan dapat digolongkan dalam dua kelompok besar, yaitu penambahan *S. cerevisiae* dan penambahan BAL. Penggunaan BAL secara umum terbukti mampu menginduksi proses pemisahan minyak dengan keunggulan kadar bilangan penyabunan, bilangan peroksida, dan asam lemak bebas yang rendah. Selain itu, penggunaan BAL juga terbukti mampu meningkatkan senyawa anti-bakteri dalam VCO antara 27 dan 51% bila dibandingkan dengan kontrol kloramfenikol, tergantung dari spesies BAL yang akan digunakan (Rahmadi *et al*, 2013).

Penggunaan kultur pemula BAL akan meningkatkan kandungan anti mikroba dari VCO. Dari penelitian yang dilakukan Rahmadi *et al* (2013) diperoleh bahwa VCO yang difermentasi oleh isolat BAL yang berasal dari blonde kelapa memiliki kemampuan penghambatan terhadap *E. coli* paling rendah, diikuti oleh isolat BAL yang berasal dari Mandai Cempedak. Isolat BAL yang berasal dari Yakult memiliki kemampuan penghambatan mikroba yang paling baik, dengan 51% daya hambat dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol terhadap bakteri uji *E. coli* (Rahmadi *et al*, 2013).

Tabel 1. Rata-Rata Zona Hambatan dari Perlakuan Produksi VCO-BAL terhadap Bakteri Uji *E. Coli*

Perlakuan	Rata-rata penghambatan pada bakteri <i>E. Coli</i>	
	Diameter Zona Hambatan (mm)	%-Penghambatan Rata-rata vs Kontrol Positif
Akuades steril	0.0	0
Antibiotik kloramfenikol	11,10±0,53	100
VCO non-BAL	2,62±0,45a	23,6
VCO-BAL <i>Lb. plantarum</i> (Mandai Cempedak)	4,95±0,65b	44,6
VCO-BAL <i>Lb. plantarum</i> (Blondo Kelapa)	3,03±0,68ab	27,3
VCO-BAL <i>Lb. casei</i> (Yakult)	6,45±0,50c	58,1

Catatan: Huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata antar perlakuan dalam analisis BNT pada taraf 5%

Sumber: Rahmadi *et al*, 2013.

MANDAI CEMPEDAK

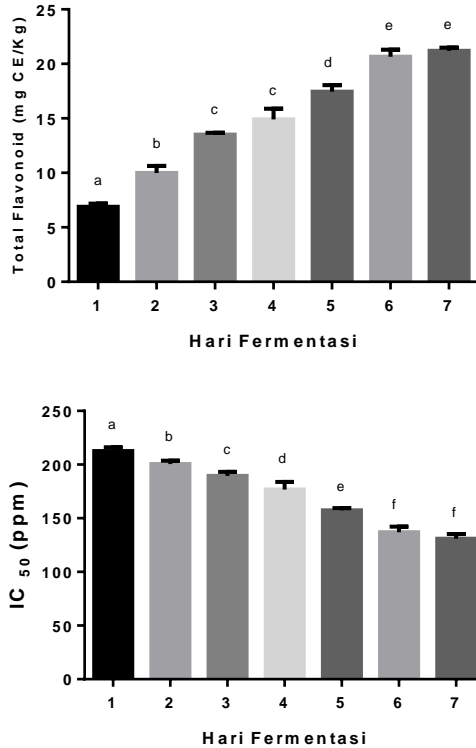
Di Kalimantan, Cempedak atau Tiwadak, selain dikonsumsi daging buah dan biji, kulitnya dapat diolah menjadi makanan yang dinamakan *mandai* atau *dami*. Pembuatan mandai dilakukan dengan cara fermentasi spontan dan disimpan pada suhu ruang, Tahapan pengolahan meliputi pengupasan kulit buah, pembuangan kulit ari, dan perendaman dengan air garam dengan tujuan untuk mengawetkan dan melunakkan teksturnya. Lama perendaman adalah selama beberapa jam hingga sebulan. Mandai Cempedak dikonsumsi dengan cara digoreng atau dijadikan bahan baku sayuran.

Mandai Cempedak yang telah difermentasi BAL memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh khususnya dapat berpotensi sebagai

probiotik. Hasil penelitian Emmawati *et al* (2015) menunjukkan bahwa 19 isolat BAL diperoleh dari mandai pada hari ke-4, 8, 12. Penurunan jumlah sel BAL hidup kurang dari 1 log CFU/ml pada pH rendah (2,0). Beberapa isolat BAL bersifat resistan terhadap antibiotik yang diujikan dan bersifat sensitif terhadap Streptomisin. Sebagian isolat diidentifikasi sebagai *Lb. plantarum* dengan teknik identifikasi API 50 CHL dan dikonfirmasi dengan *real-time-PCR*. Hasil penelitian Nur (2009) menunjukkan bahwa terdapat kecenderungan peningkatan jumlah BAL selama fermentasi Mandai Cempedak sampai hari ke-14 dengan penggunaan kadar garam rendah. Total jumlah bakteri adalah 5 log CFU/ml pada awal fermentasi dan 6 log CFU/ml pada hari ke-5 dan 7 fermentasi di suhu ruang.

Hasil fermentasi dari Mandai Cempedak berupa asam-asam organik yang berasal dari aktivitas mikroba selama fermentasi. Komponen asam organik dari aktivitas BAL diantaranya adalah asam laktat, yang dapat dimanfaatkan menjadi penyedap rasa. Cuka laktat merupakan salah satu bagian dari komponen penyedap rasa yang ditambahkan ke dalam produk makanan atau proses pengolahan produk makanan (Rahmadi, 2017). Sementara, cuka yang umum biasa diproduksi dari bahan alami baik dari buah-buahan atau dari hasil fermentasi. Pemanfaatan dari cuka selain untuk penyedap rasa juga dapat digunakan untuk mengawetkan daging (Taring, 2004), memperbaiki cita rasa makanan khususnya *seafood* (Sumendap *et al*, 2015). Cuka hasil fermentasi dari buah-buahan memiliki

banyak manfaat karena mampu menghasilkan komponen asam organik yang memiliki dampak baik bagi kesehatan tubuh.



Gambar 2. Perubahan Total Flavonoid dan Potensi Aktivitas Antioksidan terhadap Reduksi DPPH pada Fermentasi Mandai Cempedak Higienis tanpa Garam pada Suhu 37 °C.

Penggunaan kultur pemula akan menyebabkan produk memiliki kandungan polifenol dan aktivitas antioksidan yang berbeda. Penggunaan teknik fermentasi yang higienis menyebabkan populasi BAL tumbuh dengan dominan selama periode fermentasi. Total flavonoid meningkat dari 6,8 mg CE/Kg pada hari pertama menjadi 20,8 dan 21,7 mg CE/Kg

pada hari ke-6 dan ke-7 fermentasi. IC_{50} terhadap DPPH menurun dari setara 212,6 ppm menjadi 130,8 ppm setara Vitamin C. Dari parameter kadar flavonoid dan IC_{50} terhadap DPPH dapat disimpulkan bahwa waktu optimum fermentasi mandai cempedak higienis tanpa garam pada suhu 37 °C adalah 6 hari (Rahmadi *et al*, 2017).

JARUK TEGARUN DAN ASAM KOPAK

Tegarun adalah tanaman yang tumbuh di lahan basah, tanaman ini termasuk dalam tumbuhan berkayu, mengeras, menahun dan membentuk pohon. Tegarun termasuk tumbuhan berbunga banyak yang berada pada ujung rantingnya. Tanaman Tegarun hanya berbunga sekali dalam setahun, pembungaan pada Tegarun terjadi sekitar bulan Februari dan Maret (Soendjoto *et al*, 2014). Tanaman Tegarun banyak dimanfaatkan masyarakat Suku Banjar dan Kutai. Bunga Tegarun dimanfaatkan menjadi awetan Tegarun yang dalam bahasa daerah disebut Jaruk Tegarun (Rahmi *et al*, 2016). Sementara, *Asam Kopak* merupakan produk fermentasi BAL dari *Buah Kopak* (Kutai) atau *Payang* (Dayak) dengan nama latin *Mangifera pajang*.

Pangan olahan tradisional Jaruk Tegarun dan Asam Kopak memiliki rasa asam sebagai konsekuensi pertumbuhan BAL. Pangan olahan tersebut dibuat secara tradisional dengan cara merebus Bunga Tegarun. Perebusan dapat dianggap cukup saat terdapat pemudaran atau perubahan warna air

rebusan bunga dari bening menjadi kuning kehijauan. Perebusan yang dilakukan bertujuan untuk menghilangkan bau langu, menghilangkan getah dan mengurangi senyawa alelopati yang mungkin ada. Jaruk Tegarun yang telah direbus dapat dikonsumsi langsung akan tetapi kadar fitokimianya masih cukup tinggi, sehingga terasa pahit. Untuk mengurangi rasa pahit, Bunga Tegarun kemudian direndam dalam larutan air garam selama 3 hari untuk mengurangi rasa pahit, sehingga proses fermentasi spontan terjadi (Soendjoto *et al*, 2014).



Gambar 3. Bunga Tegarun dan Asam Kopak

Berdasarkan penelitian Lambui (2013) bahwa isolasi dari 26 isolat BAL Mandai Cempedak dan Jaruk Tegarun menghasilkan aktivitas α -galaktosidase dan β -galaktosidase. Dua isolat dipilih berdasarkan nilai aktivitas α -galaktosidase 4,11 - 5,07 U/ml dan β -galaktosidase 0,43 – 1,06 U/ml. Berdasarkan hasil karakterisasi fenotipe, isolat terpilih dapat diidentifikasi sebagai anggota *St. thermophilus* dan *Lb. plantarum*.

TEMPOYAK DURIAN

Durian merupakan primadona buah di Asia Tenggara, sering disebut sebagai *the king of fruit*, mengandung kadar air daging buah 60%, kadar pati 17,3%, dan kadar total gula mencapai 20,5%. Buahnya mempunyai kadar lemak 2,3%, kadar serat kasar 5,4%, kalori 108,5 Kal, dan kadar protein 2,6% (Antarlina, 2009).

Durian difermentasi di Kalimantan dan Sumatera sebagai pangan tradisional dikenal dengan sebutan tempoyak. Durian yang dijadikan tempoyak adalah durian yang memiliki tingkat kematangan yang baik dan proses fermentasinya dilakukan secara anaerobik fakultatif dalam wadah tertutup (Yuliani, 2005). Tempoyak adalah pangan fermentasi tradisional, yang memiliki aroma yang khas, terbuat dari pencampuran pulp/daging buah yang ditambahkan garam dengan kadar 2-15%. Selama fermentasi, tekstur daging durian akan berubah dari padat menjadi semi padat. Aroma

dan rasa yang khas muncul sebagai akibat dari variasi perombakan gula menjadi asam organik volatil (Yuliana dan Garcia, 2009).

Isolat tempoyak yang berasal dari daerah Filipina, menurut Yuliana dan Dizon (2011), mengandung BAL dari spesies *Lb. plantarum*, *Lactobacillus sp.*, *Weissella paramesenteroides*, dan *Pediococcus acidilacti*. Total asam laktat pada tempoyak diketahui bahwa rata-rata total asam laktat adalah 0,5% pada awal fermentasi dan terus meningkat hingga menjadi 1,8% pada akhir fermentasi (Hartayanie et al, 2013).

BIJI KAKAO

Indonesia adalah penghasil kakao ketiga terbesar di dunia setelah Ghana dan Pantai Gading. Proses fermentasi kakao di dunia sangat didominasi oleh proses fermentasi alami. Fermentasi kakao merupakan contoh fermentasi alami yang kompleks dan saling suksesif. Secara sederhana, standar jual-beli biji kakao pada umumnya terdiri dari (a) biji kakao harus terfermentasi dengan baik dan kering, tidak mengandung biji berwarna abu-abu, tidak berasa seperti abu atau asap, bebas dari bau yang tidak sedap, dan tidak ada indikasi pencampuran antara biji kakao yang baik dengan yang buruk; (b) biji kakao harus bersih dari serangga, dan (c) ukuran biji kakao harus seragam, utuh, dan bebas dari cemaran organik (Rahmadi, 2008; Ardhana dan Fleet, 2003).

Fermentasi tradisional biji kakao dilakukan di dalam kotak atau terpal agar daging buah (*pulp*) terekspose mikroba secara alamiah dan secara bertahap. Pada tahap awal, *S. cerevisiae*, *Candida sp.*, dan *Acetobacter aceti* mendegradasi daging buah kakao menjadi alkohol, air dan cuka. Penurunan pH dan panas yang ditimbulkan secara terus menerus dalam reaksi katabolisme tersebut akan mematikan lembaga di dalam biji kakao. Mikroorganisme seperti *Acetobacter aceti*, *Lb plantarum*, dan berbagai kapang akan melepaskan kompleks polifenol-matriks biji kakao sekaligus mendegradasi sebagian polifenol penyebab rasa pahit dan kelat. Mikroba-mikroba ini juga akan mendegradasi sebagian flavonoid, sehingga warna biji kakao berubah menjadi lembayung yang menandakan akhir dari proses fermentasi suksesif ini (Rahmadi dan Fleet, 2008).

Fermentasi biji kakao, seperti yang telah dijelaskan di pendahuluan, merupakan fermentasi yang kompleks dan bersifat suksesif. Beberapa kelompok mikroba terlibat dalam proses fermentasi ini, yaitu fermentasi pektinolitik, alkoholik, produksi asam cuka, dan pembentukan flavor. Selain khamir penghasil alkohol (*S. cerevisiae*), BAL, asam asetat, bakteri pembentuk spora, dan jamur turut hadir dalam proses fermentasi biji kakao.

BAL pada fermentasi kakao yang berhasil diisolasi merupakan strain yang tahan alkohol tinggi, Konsentrasi awal BAL ditemukan pada 10^6 CFU/g dan pada kondisi maksimum mencapai 10^7 - 10^8 CFU/g. BAL

akan memanfaatkan asam sitrat dan gula sederhana sebagai nutriennya. BAL menurunkan pH hingga 3,6, memberikan lingkungan yang sangat mendukung pertumbuhan Bakteri Asam Asetat (BAA). Spesies yang signifikan adalah BAL dari kelompok tumbuhan (*plant*): *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *Lb. hilgardii*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesentroides* dan *Enterococcus casseliflavus* (Rahmadi, 2008; Ardhana dan Fleet, 2003).

BAA pada fermentasi kakao memanfaatkan alkohol, mengubahnya menjadi asam cuka. Asam cuka masuk ke dalam embrio biji kakao. Derajat keasaman yang menurun bersama dengan suhu fermentasi yang cukup tinggi (50 °C) akan mematikan embrio kakao. Konsentrasi BAA pada kondisi maksimum mencapai 10^5 - 10^7 CFU/g. Pertumbuhan BAA menyebabkan kamir dan BAL terhambat, atau bersifat antagonistik. Asam asetat berkontribusi signifikan pada cita rasa produk akhir. Spesies signifikan BAA yang penting dalam fermentasi biji kakao adalah *Acetobacter syzygii*, *A. pasteurianus*, *A. tropicalis*, *A. malorum* dan *Gluconobacter oxydans* (Rahmadi, 2008. Ardhana dan Fleet, 2003; Schwan dan Fleet, 2014).

Bakteri pembentuk spora pada fermentasi kakao umumnya dianggap sebagai cemaran atau tidak diinginkan. Konsentrasi awal bakteri pembentuk spora adalah 10^5 CFU/g, dan pada kondisi maksimum mencapai 10^7 - 10^8 CFU/g. Kontribusi hipotetis dari bakteri pembentuk

spora adalah membentuk lendir (*slime*) dengan komponen utama ekso-polisakarida (EPS) yang kemungkinan mencegah tumbuhnya mikroba lainnya. Kontribusi hipotetis lainnya adalah mengubah struktur protein dan lemak yang tersisa dengan bantuan enzim ekstraseluler. Spesies signifikan dari bakteri pembentuk spora dalam proses fermentasi kakao adalah dari spesies *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* (Rahmadi, 2008; Schwan dan Fleet, 2014)

Jamur berfilamen (kapang) pada fermentasi kakao umumnya juga dianggap sebagai cemaran/tidak diinginkan. Konsentrasi hasil isolasi jamur berfilamen di awal dapat mencapai 10^5 CFU/g, dan pada kondisi maksimum dapat mencapai 10^5 - 10^7 CFU/g. Jamur berfilamen memecah pektin pada pulp pada tahap 24 jam pertama proses fermentasi. Spesies jamur berfilamen yang bermanfaat adalah *Aspergillus wentii*, *Penicillium citrinum*, *Basidiomycetes*. Sementara itu, jamur berfilamen yang lain dapat menghasilkan toksin yang disebut sebagai mikotoksin, misalnya Okratoksin dan Aflatoksin. Spesies jamur berfilamen yang berbahaya pada produk biji kakao adalah *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. parasiticus*, dan *Fusarium* (Rahmadi, 2008; Schwan dan Fleet, 2014).

TELU' IKAN

Di masyarakat Dayak Lundayeh terdapat pangan lokal hasil fermentasi yang bernilai ekonomi tinggi, bersumber dari ikan sunai, dengan nama lokal Furud (*Garra sp.*). Secara tradisional Telu' Ikan adalah oleh-oleh bernilai tinggi yang biasanya dipertukarkan dengan bahan baku pangan dari tempat yang jauh. Secara visual, Telu' Ikan memiliki kemiripan dengan *Pekasam* dan *Wadi*, yang juga merupakan produk fermentasi tradisional dari ikan. Secara definisi, Telu' Ikan adalah hasil fermentasi kering, diawetkan dengan bantuan garam dan tepung tapioka kering. Proses pembuatan Telu' Ikan dimulai dari pembersihan dan perendaman ikan sungai di dalam larutan garam, diduga dengan konsentrasi 15-25% selama satu malam. Selanjutnya, ikan ditiriskan dan ditaburi tepung tapioka yang telah disangrai. Telu' Ikan disimpan di dalam kendi tanah liat, disusun secara bertingkat dan ditutup dengan daun pisang. Kendi berisi Telu' Ikan dibiarkan selama 7 hingga 21 hari di suhu ruang. Proses pengawetan Telu' Ikan bekerja berdasarkan prinsip seleksi mikroba halofilik yang tahan A_w rendah, diduga berasal dari kelompok BAL. Putro *et al* (2016) menyatakan bahwa Telu' Ikan memiliki angka lempeng total (ALT) $3,9 \times 10^5$ hingga $7,6 \times 10^7$ CFU/g setelah difermentasi antara satu dan tiga minggu di suhu ruang.

Tabel 2. Pangan Lokal Kalimantan Hasil Fermentasi BAL

Makanan	BAL	Substrat Dominan	Metabolit & Komponen Fungsional Lain	Manfaat
<i>Mandai Cempedak; Jaruk Tegarun;</i>	<i>Lb. plantarum</i> dan <i>Leuconostoc sp. L casei</i> (starter)	Karbohidrat kompleks	Asam laktat Polifenol (fenol, tannin, flavonoid) Asam glutamat	Penurunan pH menjadi sekitar 4±0.5 Peningkatan antioksidan sebagai akibat peningkatan komponen fenolik Peningkatan cita rasa gurih sebagai akibat pelepasan asam amino dan peptida
<i>Asam Kopak</i>	<i>Lb. plantarum</i> dan <i>Leuconostoc sp.</i>	Karbohidrat kompleks Asam Sitrat Asam Askorbat	Asam laktat Polifenol (fenol, tannin, flavonoid) Asam glutamat Aldehida (sebagai akibat pengasapan)	Penurunan pH menjadi sekitar 4±0.5 Peningkatan antioksidan sebagai akibat peningkatan komponen fenolik Peningkatan cita rasa gurih sebagai akibat pelepasan asam amino dan peptida Penguatan kemampuan antibakteri sebagai akibat adanya aldehida
<i>Virgin Coconut Oil (VCO)</i>	<i>Lb. plantarum</i> dan <i>Lb casei</i> (starter)	Asam Lemak sedikit protein sedikit karbohidrat	VCO	Asam Laurat Penguatan kemampuan antibakteri sebagai akibat bakteriosin hidrofobik

Makanan	BAL	Substrat Dominan	Metabolit & Komponen Fungsional Lain	Manfaat
Biji Kakao	<i>Lb. plantarum</i>	Asam Lemak Karbohidrat kompleks Polifenol	Asam lemak Polifenol (fenol, tannin, flavonoid) Asam organik (termasuk asam laktat dalam konsentrasi rendah)	Penurunan pH menjadi sekitar 3 ± 0.5 akibat asam cuka Peningkatan antioksidan sebagai akibat perombakan komponen fenolik
<i>Telu' Ikan</i>	Belum diidentifikasi	Protein Karbohidrat kompleks (dari tepung beras dan singkong)	Asam laktat	Penurunan pH menjadi sekitar 4 ± 0.5 Peningkatan cita rasa gurih sebagai akibat pelepasan asam amino dan peptida Pengawetan sebagai akibat gabungan penurunan pH dan Aw
Tempoyak durian	<i>Lb. Plantarum</i> <i>S. cerevisiae</i>	Karbohidrat sederhana	Asam laktat, Alkohol (dari simbiosis dengan <i>S.cerevisiae</i>), Asam oganik	Peningkatan cita rasa sebagai akibat produksi asam volatil

FERMENTASI BAKTERI ASAM LAKTAT

Kartika Sari¹, Sitohang Satrio¹, Nikmatul Khoiriyah¹, Frio Handayani¹, Maya Dewi Sukarno², Titin Purna Ningsih³, Aswita Emmawati¹, Yuliani¹, Sukmiyati Agustin¹, Wiwit Murdianto¹, Anton Rahmadi¹.

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman

³Jurusan Pendidikan Biologi, Universitas Palangka Raya

Artikel ini merupakan gabungan dari Tinjauan Pustaka Skripsi a.n. Kartika Sari, Sitohang Satrio, Nikmatul Khoiriyah, dan Frio Handayani yang dibiayai melalui Hibah Fundamental dan Hibah PPT a.n. Anton Rahmadi. Sebagian lain merupakan Tinjauan Pustaka dalam Skripsi a.n. Maya Dewi Sukarno yang dibiayai melalui Hibah Dosen Muda a.n. Titin Purna Ningsih dengan anggota Anton Rahmadi. Sebagian kecil merupakan terjemahan dari pembahasan dalam artikel yang dimuat di Jurnal Mikrobiologi Indonesia (submitted 2018).

FERMENTASI

Fermentasi adalah suatu proses terjadinya perubahan struktur kimia dari bahan-bahan organik dengan memanfaatkan aktivitas agen-agen biologis terutama enzim sebagai biokatalis (Suprihatin, 2010). Dalam industri pangan, bakteri asam laktat telah digunakan untuk berbagai ragam fermentasi daging, sayuran, susu, roti, atau produk bakeri (Rahmadi *et al.*, 2002). Hur *et al.*, (2014) menyatakan bahwa fermentasi dapat meningkatkan kandungan senyawa fenolik bioaktif sehingga terjadi peningkatan aktivitas antioksidan.

Agar proses fermentasi dapat berjalan dengan baik, beberapa faktor harus diperhatikan. Faktor-faktor tersebut akan mempengaruhi aktivitas dari agen-agen biologis. Beberapa faktor utama yang mempengaruhi fermentasi meliputi suhu (Aghababaie *et al.*, 2014; Subagyo, *et al.*, 2015), pH (Aghababaie *et al.*, 2014; Subagyo, *et al.*, 2015) dan waktu fermentasi (Mal, *et al.*, 2013).

Terdapat banyak jenis makanan hasil fermentasi di dunia, beberapa diantaranya dikenal secara luas. Diantara makanan tersebut difermentasi dengan menggunakan kadar air yang tinggi (fermentasi basah) seperti *yoghurt*, *kombucha*, kecap, mandai. Produk lainnya dilakukan fermentasi dengan menggunakan air yang sangat sedikit atau tidak sama sekali (fermentasi kering) seperti kopi dan tempe.

Berdasarkan sumber mikroorganisme, proses fermentasi dibagi menjadi dua yaitu fermentasi spontan dan fermentasi menggunakan starter. Fermentasi spontan adalah fermentasi bahan pangan dimana dalam pembuatannya tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi, tetapi mikroorganisme yang berperan aktif dalam proses fermentasi berkembang biak secara spontan. Fermentasi tidak spontan adalah fermentasi yang terjadi dalam bahan pangan yang dalam pembuatannya ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk kultur pemula atau starter (Suprihatin, 2010).

Peranan bakteri asam laktat selama proses fermentasi sangat menentukan mutu produk fermentasi yang dihasilkan. Pada setiap proses fermentasi yang berjalan dengan baik, akan memperlihatkan pertumbuhan mikroba baik pada fermentasi spontan maupun pada fermentasi starter. Isnaini (2012) menyatakan bahwa pertumbuhan mikroba yang terjadi ditandai dengan perubahan-perubahan dalam nira kelapa selama fermentasi spontan berlangsung. Perubahan tersebut meliputi: fisik nira kelapa (warna, aroma dan penampakan), kimia (pH, kadar etanol, kadar gula reduksi dan total asam tertitrasi), dan mikrobiologis (populasi dan jenis mikroba). Nur (2009) melaporkan bahwa pada mandai yang difermentasi dengan kadar garam rendah dan dengan penambahan gula aren menunjukkan pola pertumbuhan mikroba selama fermentasi.

BAKTERI ASAM LAKTAT

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri gram positif berbentuk bulat atau batang, tidak memiliki spora, berkatalase negatif dan memiliki kemampuan mengubah karbohidrat menjadi asam laktat (Korhonen, 2010). Bakteri ini bermanfaat untuk mengawetkan makanan atau minuman, serta menghasilkan asam laktat dari metabolisme gula (bakteri homofermentatif) dan asam asetat, asam-asam volatil lainnya, karbon dioksida (CO₂) (bakteri heterofermentatif), serta bakteriosin.

Saat ini, sebanyak dua belas genus bakteri yang termasuk jenis bakteri asam laktat yaitu *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium*, *Weissella* dan *Oenococcus* paling banyak digunakan sebagai starter untuk proses fermentasi. Hal ini dikarenakan kedua belas genus BAL tersebut memproduksi asam laktat dalam kadar yang cukup tinggi (Ray, 2004). BAL juga memproduksi senyawa berupa asam organik lain seperti asam asetat, asam format, asam propionat dan asam butirat). Etanol, asam lemak, aseton, hidrogen peroksida, dan bakteriosin adalah produk samping fermentasi BAL. Senyawa-senyawa asam organik mampu menurunkan pH substrat (Reis et al., 2012).

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, dan disebut *food grade microorganism*. BAL adalah mikroorganisme *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan. Bahkan, beberapa jenis BAL berguna bagi kesehatan dan telah dimanfaatkan secara komersial.

Beberapa keunggulan yang dimiliki BAL yaitu: 1) BAL mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang dapat memberikan rasa dan aroma spesifik pada makanan fermentasi (Rahayu, 2001), 2) BAL mampu

meningkatkan nilai cerna pada makanan fermentasi karena dapat meningkatkan digestabilitas pada bahan makanan sehingga dapat lebih mudah diserap oleh tubuh, misalnya protein diubah menjadi asam-asam amino (Guerra *et al.*, 2006), 3) BAL menghasilkan senyawa antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan pembusuk pada bahan makanan, sehingga dapat memperpanjang masa simpan produk tersebut. Senyawa-senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL antara lain: asam laktat, hidrogen peroksida, CO₂, dan bakteriosin (Holzapfel *et al.*, 1995). Produk utamanya yaitu asam laktat yang dapat terakumulasi pada lingkungan di sekitarnya, sehingga pH dapat menurun hingga pH 4,0-4,8. Hal ini menyebabkan mikroba patogen dan pembusuk yang umumnya hidup pada pH 6,0-8,0 tidak dapat tumbuh.

Bakteri asam laktat digunakan secara alami pada makanan fermentasi sehubungan dengan timbulnya cita rasa asam (asidifikasi) akibat dari produksi asam laktat dan asetat. Efek asam tersebut diakibatkan adanya konversi karbohidrat selama fermentasi. Hal tersebut merupakan karakteristik penting guna memperpanjang masa simpan dan keamanan produk (Vuyst dan Vandamme, 1994). Perlindungan makanan dari kebusukan dan mikroorganisme patogen oleh bakteri asam laktat (BAL) adalah melalui produksi asam organik, hidrogen peroksida, diasetil (Messens dan De Vugst, 2002), komponen anti jamur seperti asam laktat

(Corsetti *et al.*, 1998) atau asam fenulaktik (Lavermicocca *et al.*, 2000) dan bakteriosin (Vuyst dan Vandamme, 1994).

Lb. plantarum

Lactobacillus plantarum adalah bakteri heterofermentatif fakultatif kelompok *lactobacilli*. *Lb. plantarum* termasuk jenis bakteri yang bersifat multifungsi dan dapat hidup hampir di semua kondisi lingkungan. Bakteri ini dapat ditemukan dari hasil fermentasi susu, daging, ikan dan sayur-sayuran atau tumbuhan hasil dari proses fermentasi (Zago *et al.*, 2011).

Lb. plantarum dianggap sebagai bakteri heterofermentatif fakultatif (Ashraf *et al.*, 2011; Zago *et al.*, 2011), oleh karena itu menghasilkan asam organik yang cukup untuk menurunkan pH. Cueva *et al.* (2013) menyatakan bahwa selama fermentasi *in vitro* hingga 48 jam dari biji anggur oleh *Lactobacilli*, asam organik seperti asam *4-hydroxyphenylacetic*, *phenylpropionic acid*, *3-hydroxyphenylacetic acid*, *phenylacetic acid*, *3-(4-hydroxyphenyl) -propionic acid*, dan *4-hydroxy-5- (phenyl) -valeric acid* secara signifikan meningkat oleh proses fermentasi. Senyawa ini, bersama dengan asam laktat menyebabkan keasaman yang meningkat dari mandai cempedak yang difermentasi.

Lb. casei

Lactobacillus casei adalah bakteri Gram-positif, anaerob, tidak memiliki alat gerak, tidak menghasilkan spora, berbentuk batang dan termasuk dalam genus *Lactobacillus*. *Lactobacillus* adalah bakteri yang bisa memecah protein, karbohidrat, dan lemak dalam makanan, dan menolong penyerapan elemen penting dan nutrisi seperti mineral, asam amino, dan vitamin yang dibutuhkan manusia dan hewan untuk bertahan hidup. Genus *Lactobacillus* mempunyai banyak kelebihan yang berpotensi untuk dijadikan sebagai agen probiotik (Sunaryanto et al., 2014). Surono (2004) menyebutkan bahwa *Lb. casei* Shirota strain merupakan bakteri asam laktat yang tetap bertahan hidup dalam saluran pencernaan.

Lb. casei adalah salah satu jenis bakteri asam laktat heterofermentatif fakultatif yang digunakan oleh industri pangan sebagai starter dalam keberhasilan fermentasi susu dan beberapa produk turunan dari susu seperti keju. *Lb. casei* mudah beradaptasi, berasal dari hasil fermentasi makanan maupun minuman yang baik dikonsumsi untuk sistem pencernaan manusia dan hewan. *Lb. casei* umumnya ditemukan pada produk fermentasi susu (seperti keju), *wine* (anggur), acar, silase dan *kimchi* (Alcantara dan Zuniga, 2012).

Lb. casei ditambahkan ke dalam mandai dimaksudkan untuk menetapkan bakteri asam laktat yang dikehendaki untuk tumbuh di dalam mandai fermentasi. Penggunaannya juga dimaksudkan untuk mengurangi

resiko penggunaan garam dalam fermentasi mandai karena fermentasi mandai biasanya dilakukan dengan penambahan garam dengan jumlah yang banyak. Penambahan garam dengan kadar yang tinggi dapat membatasi penerimaan konsumen terhadap produk serta berpengaruh kurang baik bagi kesehatan konsumen (Nur, 2009).

FERMENTASI BAL

Secara tradisional BAL, sudah ada sejak zaman dahulu (± 3000 tahun). Penggunaan starter secara modern untuk industrialisasi produk fermentasi BAL baru dimulai tahun 1990-an. Pada tahun 1990-an, BAL sudah digunakan untuk fermentasi produk kering dan minuman seperti *kimchi*, ikan, *yoghurt* dan sayuran (Rhee *et al.*, 2011). *Lb. helveticus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. plantarum* dan kombinasi dari berbagai jenis *Lactobacillus* adalah contoh pemanfaatan bakteri jenis *Lactobacillus* pada fermentasi produk pangan yang umum digunakan (Nahariah *et al.*, 2013).

Rhee *et al.*, (2011) melaporkan bahwa BAL menjadi faktor penting dalam keberhasilan produk akhir hasil fermentasi di Asia. BAL yang digunakan secara luas pada fermentasi yaitu bakteri *Alkalibacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella* yang telah menghasilkan berbagai variasi makanan dan minuman fermentasi (Tamang *et al.*, 2016).

Di dunia industri pengolahan, BAL berperan penting dan sangat banyak ditemukan pada makanan dan minuman seperti bakteri *Lactococcus* yang menghasilkan susu, *Lactobacillus* (susu, daging, sayur-sayuran dan biji-bijian), *Leuconostoc* (sayur-sayuran dan daging), *Pediococcus* (sayur-sayuran dan daging), *Oenococcus* (minuman anggur) dan *Streptococcus* dan *Enterococcus* (susu dan produk turunan susu) (De Vuyst dan Tsakalidou, 2008; Bjorkroth dan Koort, 2011).

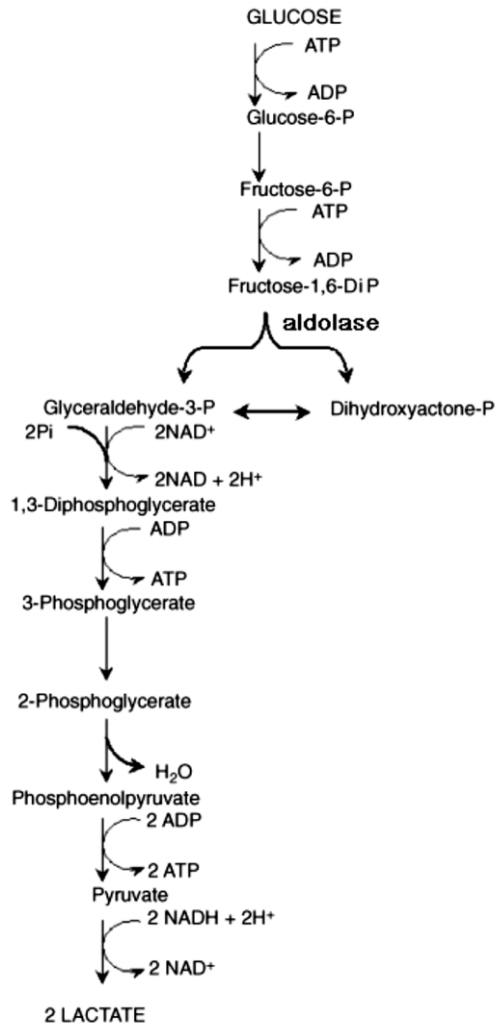
Identifikasi sumber-sumber BAL dapat ditemukan pada pangan fermentasi tradisional seperti tauco, bekasam, rusip, dadih, pickel, sawi asin, salami, *kimchi*, tempoyak dan *mandai* dan juga dapat dikaji sebagai kandidat sumber probiotik serta menelusuri isolat BAL yang mempunyai sifat fungsional yang dapat meningkatkan kesehatan (Rahayu, 2003).

TIPE FERMENTASI BAL

Bakteri pembentuk asam laktat terbagi menjadi 2 tipe fermentasi, yaitu : 1) spesies homofermentatif yang mampu mengubah glukosa mejadi asam laktat sebagai hasil utama, 2) spesies heterofermentatif, merupakan grup yang memproduksi asam laktat dalam jumlah sedikit dan produk yang dihasilkan yaitu etanol, asam asetat, dan asam format (Moat *et al.*, 2002). Jalur fermentasi bakteri asam laktat homofermentatif dan heterofermentatif seperti yang ditampilkan pada Gambar 4.

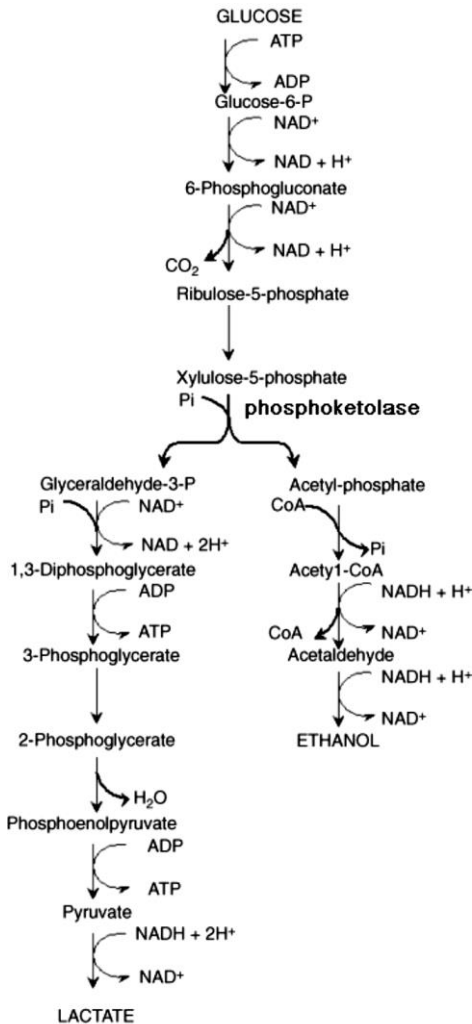
BAL homofermentatif adalah bakteri yang ditemukan dari hasil fermentasi gula menjadi asam laktat sebagai produk utamanya, sebagian kecil asam asetat dan karbon dioksida (CO₂). BAL heterofermentatif mampu menghasilkan asam laktat dari glukosa sebesar 85-90% (Surono, 2004). Beberapa contoh bakteri dari kelompok homofermentatif adalah *Lb. bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. thermophilus* dan *Lb. delbrueckii*. Umumnya bakteri tersebut dapat tumbuh pada kisaran suhu 37 °C atau suhu di atasnya.

BAL heterofermentatif adalah bakteri yang ditemukan dari hasil fermentasi produk alkohol dan asam laktat. Bakteri ini bersifat *mesofilik* yang tumbuh pada suhu optimum (30-35 °C) seperti *Lb. casei*, *Lb. plantarum* dan *Lb. leichmanii* (Sunaryanto *et al.*, 2014). BAL heterofermentatif dari genus *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri bakteri gram positif, bersifat non motil, tidak berspora dan termasuk bakteri anaerob fakultatif (Ray, 2004).



Gambar 4. Jalur Fermentasi Homofermentatif Asam Laktat

Sumber: Surono (2004)



Gambar 5. Jalur Fermentasi Heterofermentatif Asam Laktat

Sumber: Surono (2004)

KINETIKA PERTUMBUHAN BAL

Dalam fermentasi spontan, garam menjadi salah satu faktor kunci dalam seleksi pertumbuhan BAL, sehingga berpengaruh terhadap kinetika pertumbuhannya. Fermentasi spontan petis daging yang diteliti oleh Pramono *et al.*, (2007) mengemukakan adanya pertumbuhan BAL jenis

Leuconostoc dan *Lactobacillus* yang tumbuh cepat karena adanya garam dan membentuk asam sebagai penghambat tumbuhnya mikroba yang tidak dikehendaki.

Penelitian Nur (2009) pada fermentasi spontan *mandai* selama fermentasi hari ke-3, 5, 7 dan 14 penyimpanan di suhu ruang menunjukkan pertumbuhan mikroba, yaitu khamir di hari ke-5 ($2,8 \times 10^9$ cfu/g), bakteri dominan di hari ke-14 ($1,1 \times 10^7$ cfu/g) dan nilai pH bervariasi di kisaran 3,71-6,12 selama proses fermentasi. Beberapa jenis bakteri asam laktat pada genus *Pediococcus* dan *Leuconostoc* adalah jenis bakteri asam laktat yang umum ditemukan pada fermentasi buah-buahan dan sayuran. Penelitian Afriani (2010) terhadap penambahan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* pada fermentasi dadih susu sapi diperoleh total bakteri asam laktat sebesar $2,67 \times 10^{13}$ cfu/ml selama berlangsungnya fermentasi.

Suhu menjadi faktor keberhasilan hidup bakteri yang membuat BAL mampu beradaptasi dan memiliki respon berbeda di lingkungan. Pertumbuhan mikroba memiliki kisaran suhu optimum yang berbeda untuk tiap jenis mikroba. Berdasarkan kisaran suhu pertumbuhan, mikroba dikelompokkan menjadi mikroba *psikrofil* atau *kriofil* (mikroba yang tumbuh pada suhu 0-30 °C dengan suhu optimum 15 °C), mikroba *mesofil* (mikroba yang umumnya tumbuh pada suhu minimum 15 °C, suhu optimum 25-37 °C dan pada suhu maksimum 45-55 °C) dan mikroba

termofil (suhu minimum 40 °C, suhu optimum 55-60 °C dan suhu maksimum pertumbuhan pada suhu 75 °C) (Sumarsih, 2003).

Reaksi BAL terhadap respon kejutan panas bersifat adaptif dan mengubah suhu dengan cepat. Fiocco *et al.*, (2007) menyatakan bahwa tiga gen jenis protein panas Hsp 18,5; Hsp 18,55 dan Hsp 19,3 teridentifikasi dari jenis *Lb. plantarum* WCFS1 memiliki kemampuan peningkatan tumbuh pada kondisi suhu sedang (37 °C dan 40 °C) maupun pada suhu rendah (12 °C). Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Maria De Angelis *et al.*, (2004) terhadap sembilan protein yang menginduksi panas dari sel *Lb. plantarum* DPC2739 atau selama fase stasioner. *Lb. plantarum* tersebut memiliki gen-gen yang aktif pada suhu tinggi, sehingga BAL tersebut dapat menghasilkan sembilan protein tahan panas. BAL memiliki daya tahan dan dapat beradaptasi hingga suhu 75 °C. Hal ini diduga karena adanya sembilan protein tahan panas yang teridentifikasi sebagai DnaK, GroEL, faktor pemicu, ribosom L1, L11, L31 dan S6, DNA pengikat protein II H1bA dan CspC. Semua protein diduga kuat memainkan jalur mekanisme penekanan adaptasi pertumbuhan bakteri lainnya dan gen yang bertanggung jawab sebagai penunjang adaptasi BAL pada suhu tinggi.

MEDIA TUMBUH BAL

Medium selektif yang umum dipakai untuk menumbuhkan BAL yaitu media MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dan MRSB (*De Mann Rogosa Sharpe Broth*). BAL pada medium susu menggunakan starter utama berupa *Lac. lactis* subsp. *cremoris*, *Lac. lactis* subsp. *lactis*, *Lb. helveticus*, *Leuconostoc* spp. dan *Streptococcus thermophilus*. Beberapa starter non-BAL umumnya ditemukan pada fermentasi susu dengan suhu tinggi seperti *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* dan *Lb. salivarius* (Briggiler-Marco *et al.*, 2007). BAL pada medium tumbuhan jenis sayuran didominasi adanya bakteri *Lactobacillus* dan *Pediococcus* (Tamang *et al.*, 2016).

METABOLIT SEKUNDER BAL

BAL berperan penting dalam menciptakan produk hasil fermentasi, peran BAL mampu menciptakan komponen kimia bahan pangan yang dapat mempertajam aroma, memperbaiki tekstur dan mengubah mutu akhir produk, menghasilkan substansi antimikroba, pembentuk gula, pemanis, pembentuk aroma, vitamin, enzim dan berpotensi sebagai probiotik (Leroy dan Vuyst, 2004; Nguyen *et al.*, 2013). BAL memproduksi *Anti Microbial Peptide* (AMP) atau dikenal dengan istilah bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Peningkatan pertumbuhan BAL dapat dipengaruhi dari lamanya waktu inkubasi, suhu, kelembapan,

cahaya, pH dan nutrisi yang dapat mempengaruhi tingkat pertumbuhan (Mallesha *et al.*, 2010). BAL juga menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2) dan karbon dioksida (H_2O).

Bakteriosin adalah senyawa peptida antimikroba terdegradasi oleh enzim proteolitik pada sistem pencernaan makhluk hidup dan tergolong jenis bakteri gram positif. Bakteriosin yang berasal dari bakteri asam laktat pada produk fermentasi dapat mencegah terjadinya pembusukan, menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen (*Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes* (Leroy dan Vuyst, 2004). *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* adalah penghasil bakteriosin dari BAL yang umum digunakan untuk memproduksi fermentasi makanan (Bali *et al.*, 2014).

KAPASITAS ANTIBAKTERI ISOLAT BAL

Bakteri asam laktat kelompok *Lactobacillus* telah banyak ditemukan pada pangan hasil fermentasi buah, sayur dan daging-dagingan. Rahayu (2003) melaporkan hasil penelitian pertumbuhan mikroorganisme pada produk *mandai* dan berhasil mengisolasi sembilan bakteri dari *mandai*, diantaranya telah teridentifikasi bakteri *Lb. plantarum* dan *Pediococcus pentosaceus*. Isolat bakteri asam laktat asal *mandai* berkandidat sebagai probiotik.

Penelitian Emmawati *et al* (2015) pada fermentasi *mandai* hari ke-4, 8 dan 12 dengan penambahan garam kadar 5%, 10% dan 15% dan selanjutnya dikaji sifat-sifat probiotiknya. Hasil penelitian membuktikan isolat bakteri asam laktat asal *mandai* menghasilkan bakteri *Lb. plantarum*, terutama pada *Lb. plantarum* isolat MC812 dan MC809 memiliki sifat antibakteri patogen jenis *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* dan *Escherichia coli*.

Lb. plantarum adalah satu dari kelompok bakteri asam laktat mesofilik yang umumnya tumbuh pada produk fermentasi asal hewani dan nabati atau tumbuh-tumbuhan (De Angelis *et al.*, 2004). Bakteri *Lb. plantarum* memiliki sifat antagonis atau antimikroba terhadap bakteri patogen dan pembusuk penyebab kerusakan pangan seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* (Mangalisku, 2015).

Rahmadi *et al* (2013) melaporkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* di medium MRSA yang terdapat pada *mandai* dan blondo kelapa mempunyai sifat morfologi sel berbentuk batang, gram positif, tidak berspora, non motil dan berkatalase negatif. Hasil penelitian dari Rahmadi *et al.*, (2013) isolat bakteri asam laktat dari *virgin coconut oil* menunjukkan kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Lactobacillus casei* menghasilkan VCO-BAL dengan persentase lebih besar yaitu 34,5%, VCO-BAL *Lactobacillus plantarum* asal isolat *mandai* 29,5% dan blondo kelapa sebesar 25,3%.

Aktivitas antibakteri dari VCO-BAL diduga dipengaruhi bakteriosin hidrofobik.

KAPASITAS ANTIOKSIDAN PRODUK FERMENTASI BAL

BAL yang berhasil diisolasi dalam fermentasi Jaruk Tegarun adalah *Lb. plantarum*. Fermentasi Bunga Tegarun menjadi Jaruk meningkatkan kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan. Total fenolik dan aktivitas antioksidan paling tinggi terdapat pada Jaruk yang diekstrak dengan metanol yaitu sebesar $53,24 \pm 0,73$ mg GAE/kg ekstrak dan $92,68 \pm 0,02$ %. Pemisahan ekstrak menjadi fraksi mampu meningkatkan aktivitas antioksidan namun pemisahan lanjut menjadi komponen tunggal ternyata menurunkan aktivitas antioksidan. senyawa-senyawa yang tergabung dalam fraksi bersifat sinergis. Hasil analisis spektrum UV-Visible dan IR dari senyawa menunjukkan dugaan senyawa flavonoid (Rahmi *et al*, 2016).

Lactobacillus casei dan *Lb. plantarum* diketahui memiliki aktivitas β -glukosidase dan α -galaktosidase yang meningkatkan flavonoid dalam produk makanan yang difermentasi, yaitu dalam fermentasi kedelai (Marazza *et al*, 2009). Dalam hal ini, Hur *et al* (2014) menyatakan bahwa fermentasi LAB menyebabkan pembentukan asam organik yang mempengaruhi pH, reaksi Maillard, dan jalur pentosa fosfat yang kemudian mengurangi keseimbangan redoks dan aktivitas radikal.

Fermentasi juga menyebabkan aktivasi β -glukosidase, α -galaktosidase, tannase, dan phosphoketolase yang membantu hidrolisis dan depolimerisasi fenolat. Proses hilir memiliki implikasi dari pembebasan zat fenolik yang pada gilirannya menyediakan hidrogen atau donor elektron dan positif memodulasi aktivitas khelasi ion logam. Akibatnya, aktivitas pembilasan radikal bisa meningkat. Quercetin dan asam galat secara signifikan lebih tinggi selama fermentasi BAL *Graptopetalum paraguayense* dalam setiap tahap kematangan buah (Wu et al, 2011). Hole et al (2012) menyimpulkan bahwa fermentasi produk sereal dengan probiotik spesifik menunjukkan peningkatan yang signifikan dari asam fenolik bebas, yaitu asam *caffeic*, asam *p-coumaric*, asam *ferulat*, asam *sinapic*, asam *5,5-diferulic*, 8-o-4. – asam *diferulic*, dan 8,5- asam *diferulic*. BAL yang dipilih mampu meningkatkan asam fenolik bebas karena aktivitas *feruloyl esterase* (FAE) tinggi.

Dalam fermentasi padat, peningkatan aktivitas antioksidan berkaitan dengan modulasi kandungan polifenol juga terbukti. Lee et al (2008) melaporkan bahwa peningkatan aktivitas antioksidan diamati ketika menggunakan starter yang berbeda untuk memfermentasi kacang koji, yang dikaitkan dengan peningkatan kandungan fenol dan antosianin. Selanjutnya, peningkatan zat fenolik diukur selama fermentasi biji kacang polong yang dimasak, gandum gandum, dan produk kedelai (Starzynska-

Janiszewska et al, 2008; Bhanja et al, 2009; Singh et al, 2010, Dajanta et al, 2013) .

Namun, perubahan isi fitokimia adalah spesifik sedang dan menurun (Martins et al, 2011). Dalam kondisi lain, yaitu fermentasi teh, dinyatakan bahwa flavonoid monomer diubah menjadi derivatif polimerik karena daun teh selanjutnya difermentasi (Kim et al, 2011). Akibatnya, kandungan polifenol berkurang karena tingkat fermentasi yang lebih tinggi terjadi. Selanjutnya, faktor eksternal yang mempengaruhi perubahan isi fitokimia adalah durasi kursus fermentasi, suhu, pH, inhibitor, stimulator, dan komposisi atmosfer di ruang fermentasi (Hur et al, 2014).

Perubahan nilai IC_{50} penghambatan pengurangan DPPH secara terbatas dipengaruhi oleh pH jika perbedaan pH kurang dari 1. Namun, jika perbedaan pH pada kisaran lebih besar dari 2, nilai IC_{50} penghambatan pengurangan DPPH antar produk akan berbeda. secara signifikan (Pekal dan Pyrzynska, 2015). Dalam studi ini, perbandingan penghambatan IC_{50} pengurangan DPPH dilakukan hanya antara hari yang sama difermentasi produk mandai cempedak, di mana perbedaan pH kurang dari 1 antara spontan dan starter produk fermentasi terinduksi. Disimpulkan bahwa IC_{50} penghambatan DPPH pengurangan fermentasi yang diinduksi starter lebih rendah dari nilai yang dihasilkan dari fermentasi spontan. *Lb. casei* menghasilkan produk fermentasi dengan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan produk fermentasi dari *Lb. Plantarum*.

PENINGKATAN KUALITAS FUNGSIONAL PRODUK FERMENTASI LOKAL DENGAN KULTUR PEMULA

**Anton Rahmadi, Ayu Via Nurmawaty, Siti Maimunah, Satrio
Sitohang, Kartika Sari**

PENDAHULUAN

Pangan tradisional produk fermentasi lokal banyak ditemukan di Kalimantan Timur. Beberapa produk tersebut yang telah menjadi kajian secara intensif adalah produk hasil fermentasi BAL, seperti *Virgin Coconut Oil* (VCO), *Mandai Cempedak*, *Jaruk Tegarun*, *Sambal Asam Kopak* dan *Telu' Ikan*. Proses seleksi dan identifikasi pertumbuhan mikroorganisme di produk fermentasi lokal mengikuti teori pertumbuhan mikroba. Adam dan Moss (2008) menyebutkan terdapat tiga tipikal pertumbuhan mikroba yang kompleks, yaitu sinergistik, antagonistik, dan suksesif. Pertumbuhan sinergistik didefinisikan sebagai beberapa mikroba tumbuh secara sinergis bersama-sama, sehingga di akhir proses fermentasi, mikroba-mikroba ini dapat dideteksi keberadaannya.

Pertumbuhan antagonistik dikarakterisasi sebagai pertumbuhan mikroba yang satu akan menghambat pertumbuhan mikroba yang lainnya, sehingga di akhir proses fermentasi, flora akan didominasi oleh mikroba tertentu. Fermentasi dengan menggunakan media selektif tradisional seperti garam, asam, tepung, dan suhu tertentu akan menguntungkan

mikroba tertentu untuk dapat tumbuh lebih cepat. Mikroba tersebut kemudian menghasilkan metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba yang lainnya. Contoh metabolit yang menghambat pertumbuhan mikroba lain adalah bakteri penghasil asam (laktat, asetat, propionat), mikroba penghasil alkohol (*S. cerevisiae*), dan mikroba penghasil bakterisida maupun bakteriosin (Adam dan Moss, 2008).

Pertumbuhan suksesif diidentifikasi saat mikroba yang tumbuh lebih awal akan menghasilkan metabolit yang menguntungkan atau merupakan substrat bagi mikroba lainnya. Saat metabolit yang dihasilkan sudah cukup banyak, maka bakteri yang lain akan mengambil peranan yang lebih besar. Misalnya pada fermentasi kakao, mikroba penghasil enzim pemecah pektin menjadi oligosakarida atau disakarida akan menguntungkan *S. cerevisiae* yang melanjutkan proses pemecahan karbohidrat sederhana menjadi alkohol. Alkohol kemudian dimanfaatkan oleh kelompok *Acetobacter* untuk memproduksi cuka (Rahmadi dan Fleet, 2007).

Proses seleksi dalam pangan tradisional produk fermentasi lokal dapat dilakukan secara sederhana dengan cara penambahan garam dan asam. Penambahan garam atau penambahan tepung penyalut akan menyebabkan A_w dari produk turun, sehingga mikroba-mikroba yang berkembang adalah yang tahan A_w rendah (Sadek et al, 2009). Kelompok bakteri tahan garam (halofilik) diantaranya adalah BAL. Penambahan

asam akan menyebabkan pH lingkungan turun, sehingga mikroba-mikroba yang berkembang adalah yang tahan asam (asidofilik) (Abdillah, 2010).

Secara sederhana, pangan tradisional produk fermentasi lokal dapat dikemas dalam paket teknologi tepat guna. Produk olahan tradisional perlu mendapatkan benefit dari penggunaan kultur pemula (*starter*) isolat lokal yang bermanfaat untuk meningkatkan kualitas akhir produk. Kandungan komponen fungsional seperti komponen anti mikroba pada VCO hasil fermentasi dan komponen polifenol pada mandai hasil fermentasi kultur pemula akan meningkat (Rahmadi dan Fleet, 2008; Rahmadi dan Murdiyanto, 2015). Teknologi tepat guna dapat diaplikasikan secara sangat sederhana dengan mengintroduksi isolat lokal dan tahapan-tahapan fermentasi yang menjamin peningkatan kualitas produk akhir.

Tulisan ini bertujuan untuk mendiseminasikan dasar teori, hasil-hasil mutakhir tentang teknologi tepat guna fermentasi produk lokal menggunakan isolat dan tahapan-tahapan fermentasi yang berimplikasi pada peningkatan kualitas fungsional produk akhir. Diseminasi ini disampaikan dalam bentuk teknologi terapan dengan dukungan dasar teori dan hasil-hasil penelitian yang sesuai.

FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PROSES FERMENTASI

Fermentasi terjadi dikarenakan bahan pangan, baik secara sengaja atau tidak, disimpan pada lingkungan yang mendukung terjadinya pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba yang diinginkan. Saat fermentasi terjadi, mikroorganisme tersebut tumbuh, memecah senyawa kompleks, memanfaatkan nutrisi, dan memproduksi metabolit. Ragam produk akhir fermentasi sangat ditentukan oleh beberapa hal, yaitu kondisi lingkungan saat bahan pangan dihasilkan, kualitas mikrobiologis pada bahan pangan sebelum diproses, sanitasi saat bahan pangan diproses, dan kondisi kemasan, penanganan, dan penyimpanan saat produk difermentasi (Ray dan Bhunia, 2014; Jay, 2012).

Fermentasi Alami

Semua bahan pangan mentah mengandung mikroba indigenos, termasuk didalamnya mikroba yang akan terlibat dalam fermentasi yang menguntungkan maupun merugikan. Akan tetapi, proses fermentasi hanya akan terjadi apabila kondisi inkubasi menyediakan kesempatan untuk mikroba yang diinginkan berkembang, mikroba yang tidak diinginkan berkembang lebih lambat atau tidak berkembang sama sekali (Adam dan Moss, 2008). Keunggulan fermentasi alami adalah pada aroma atau cita rasa yang dihasilkan lebih kaya dibandingkan fermentasi induktif atau terkontrol. Kelemahan fermentasi alami adalah mikro flora indigenos awal

yang beragam dan berubah-ubah, adanya kesulitan menjaga konsistensi kualitas dan karakteristik produk akhir, adanya kemungkinan kebusukan karena pertumbuhan mikroba tidak diinginkan, dan permasalahan keamanan pangan akibat pertumbuhan patogen (Ray dan Bhunia, 2014).

Dalam fermentasi alami biji kakao, terdapat tahapan fermentasi yang berhasil, terdiri dari kematian lembaga biji, pembentukan flavor, reduksi antosianin, dan rendah cemaran jamur. Khamir dan *Bacillus sp.* berperan dalam memproduksi enzim pektinolitik yang memecah daging buah kakao, sehingga dapat digunakan oleh *S. cerevisiae* untuk memproduksi alkohol. Etanol dalam jumlah yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku asam asetat oleh kelompok bakteri *Acetobacter*. Beberapa bakteri memanfaatkan asam sitrat dan substrat glukosa sebagai bahan baku untuk fermentasi asam laktat, propionat, dan beberapa asam volatil lainnya yang berguna sebagai flavor biji kakao (Tabel 3).

Tabel 3 Fermentasi Suksesif pada Biji Kakao

<i>Fungsi</i>	<i>Spesies</i>
Produksi enzim pektinolitik	<i>Bacillus spesies, Kluyveromyces marxianus, Saccharomyces cerevisiae, Candida spp., dan Pichia spp.</i>
Produksi Etanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Reduksi asam sitrat	<i>Candida spp. dan Pichia spp.</i>
Produksi asam organik dan volatil	<i>Kloeckera apiculata, Saccharomyces cerevisiae, Candida spp., Kluyveromyces marxianus, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus plantarum, Leuconostoc mesentroides Lactococcus lactis, Acetobacter syzygii, A. pasterianus, A. tropicalis, A. malorum, Gluconobacter oxydans</i>

Sumber: Rahmadi, 2008.

Penggunaan kultur pemula sederhana yang telah diteliti terdiri dari *Saccharomyces cerevisiae*, *Lb. plantarum*, *Lb. lactis*, *Acetobacter aceti*, dan *Gluconobacter oxydans* atau *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Hanseniaspora guilliermondii*, dan *Isatchenia orientalis* (Lefeber et al, 2011). BAL dapat ditambahkan dengan tujuan untuk peningkatan flavor biji kakao yang difermentasi (Kresnowati et al, 2013).

Syarat-Syarat Terjadinya Fermentasi

Berkaitan dengan pertumbuhan mikroorganisme dalam proses produksi pangan lokal hasil fermentasi dapat terjadi apabila terdapat lingkungan yang sesuai untuk berkembang, misalnya makanan (nutrisi), pH, aktivitas air (A_w), dan temperatur yang sesuai (Adam dan Moss, 2008). Selain itu, syarat lain yang diperlukan adalah terdapatnya mikroba yang dapat berkembang pada lingkungan tersebut dan pembuktian bahwa mikroba tersebut memang tumbuh dan berkembang. Berkaitan dengan hal pertama, keadaan lingkungan yang mendukung, maka kita dapat membagi faktor lingkungan ini ke dalam dua bagian besar, yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Akan tetapi, semua faktor lingkungan yang dibicarakan menjadi sebuah semesta pembicaraan yang tidak terpisahkan, karena saling terkait satu dan lainnya (Ray dan Bhunia, 2014; Doyle dan Buchanan 2012). Pendekatan ini disebut dengan pendekatan ekologi (Fleet, 2003).

Faktor Intrinsik

Untuk meningkatkan pemanfaatan kultur pemula dalam proses produksi pangan lokal hasil fermentasi diperlukan pemahaman yang baik tentang faktor intrinsik fermentasi. Faktor intrinsik artinya adalah segala sesuatu yang terdapat atau melekat pada lingkungan (media) tempat tumbuh mikroba tersebut. Apabila diasumsikan media berada pada kondisi stabil dan steril, faktor intrinsik ini tidak akan berubah-ubah kondisinya. Faktor intrinsik terjadinya fermentasi, terdiri dari nutrien, faktor penghambat dan stimulan, aktivitas air, pH, dan potensial redoks (Ray dan Bhunia, 2014).

Perkembangan atau pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi pangan lokal dapat berlangsung apabila mikroba dapat melakukan sintesis komponen-komponen seluler dan energi dengan mengambil nutrisi dari lingkungannya. Komponen nutrisi ini yang diperlukan oleh mikroba dalam fermentasi cukup beragam, namun secara garis besar terdiri dari karbohidrat atau sumber C, protein, asam amino atau sumber N, lipid terutama asam lemak esensial, mineral, dan vitamin. Adapun air tidak dianggap sebagai komponen nutrisi, tetapi penting sebagai medium terjadinya reaksi biokimia dalam proses sintesis komponen sel dan energi (Ray dan Bhunia, 2014; Adam dan Moss, 2008). Semua bahan pangan memiliki kelima komponen tersebut, baik secara natural memang terdapat di dalam bahan, ataupun dengan cara ditambahkan. Komposisi kelima

komponen nutrisi pada setiap bahan pangan berbeda, diantaranya dipengaruhi oleh faktor varietas, lokasi diperoleh, tingkat kematangan, dan kualitas bahan pangan (Ray dan Bhunia, 2014; Doyle dan Buchanan, 2012; Fleet, 2003).

Aktivitas air (A_w) didefinisikan sebagai sebuah besaran ketersediaan air untuk berlangsungnya fungsi-fungsi biologis. A_w berkaitan erat dengan ketersediaan air tidak terikat di dalam bahan pangan. A_w diekspresikan sebagai rasio antara tekanan uap air dalam bahan pangan ($P_0 < 1$) terhadap air murni ($P_0 = 1$) (Adam dan Moss, 2008). Oleh karena itu, tekanan uap air dalam bahan pangan selalu berada di antara 0 dan 1. A_w berhubungan erat dengan ekuilibrium kelembaban relatif (ERH), di mana A_w sama dengan ERH dibagi 100. A_w pada bahan pangan dapat diturunkan dengan menghilangkan air dari bahan pangan (desorpsi).

A_w pada bahan pangan dapat pula dinaikkan dengan menambahkan air ke bahan pangan (adsorpsi). Untuk menurunkan A_w , beberapa cara dapat dilakukan, misalnya menambahkan solut (zat terlarut), menambahkan ion, membuat ikatan hidrokoloid, pembekuan, dan pengeringan (Ray dan Bhunia, 2014).

Ketersediaan air dalam bentuk bebas penting bagi pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi pangan lokal. Air digunakan oleh mikroba sebagai medium transportasi nutrisi ke dalam sel, membuang metabolit ke luar sel, tempat berlangsungnya reaksi enzimatik, medium

sintesis komponen seluler, dan berperan membantu proses biokimia seperti hidrolisis polimer menjadi monomer. Setiap mikroba memiliki A_w optimum, maksimum, dan minimum untuk pertumbuhannya, sehingga penting untuk dipelajari A_w optimum untuk pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi pangan lokal. A_w minimum merupakan batasan paling minimum agar bakteri dapat bersporulasi, spora dapat bergerminasi, atau toksin dapat diproduksi. Di bawah A_w minimum, mikroba mungkin dapat tumbuh (secara non ideal), namun populasinya akan terus tereduksi dan kehilangan viabilitasnya (Ray dan Bhunia, 2014; Doyle dan Buchanan, 2012).

Tabel 4 Beberapa Kisaran A_w Minimum untuk Kelompok Mikroba dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal

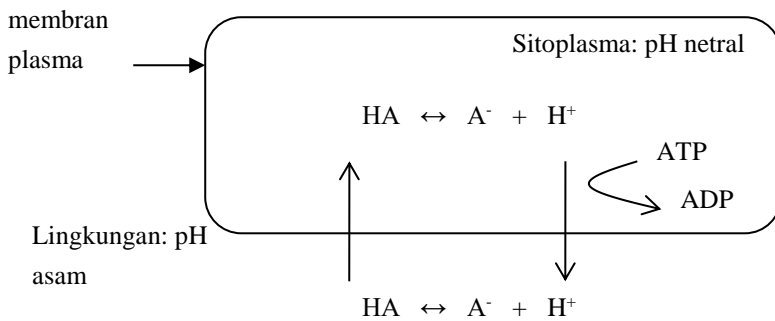
A_w	Kelompok Mikroba	A_w	Kelompok Mikroba
0,6	Jamur xerofilik, contoh: <i>Eurotium chevaleri</i> (teleomorf <i>Aspergillus</i>) pada tepung	0,8	Jamur, contoh: <i>Stemphylium</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Phoma</i> pada biji kakao kering
0,6-0,7	Kamir osmofilik contoh: <i>Isatchenka orientalis</i> (teleomorf <i>Candida</i>) pada biji kakao kering,	0,85	Kamir, contoh: <i>Kluyveromyces</i> , <i>Kloeckera</i> pada anggur.
0,9	Bakteri Gram positif contoh: <i>Bacillus cereus</i> pada produk biji-bijian	0,93	Bakteri Gram negatif contoh: <i>Camphylobacter jejuni</i> pada daging
0,85	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,75	Bakteri Halofilik (>10% garam) Contoh: <i>Corynebacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Pediococcus</i>

Sumber: Rahmadi dan Fleet 2007; Ray dan Bhunia, 2014; Ardhana dan Fleet, 2003; Doyle dan Buchanan, 2012; Adam dan Moss, 2008.

Proses fermentasi produk lokal sangat dipengaruhi oleh pH. Secara teoretis, pH merupakan indikator konsentrasi ion hidrogen dalam bahan pangan dan diekspresikan sebagai $-\log[H^+]$. Nilai pH berkisar antara 0 – 14, di mana pH 7 merupakan pH netral. Keasaman terkait erat dengan pH. Konsentrasi asam tinggi berarti pH rendah, asam rendah berarti pH tinggi. Namun, penambahan atau pengurangan konsentrasi asam tidak selalu linier dengan turun atau naiknya pH, karena adanya asam kuat seperti HCl dan asam non-organik yang terdisosiasi sempurna. Selain itu, pH juga dapat dipengaruhi oleh adanya asam lemah, yang biasanya terdapat pada asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat (Doyle dan Buchanan, 2012). Asam lemah dapat berada dalam bentuk terdisosiasi ataupun tidak terdisosiasi. Dalam bentuk tidak terdisosiasi artinya asam tidak berkontribusi kepada penambahan konsentrasi ion hidrogen dalam bahan pangan (Adam dan Moss, 2008).

Faktor pH sangat berperan dalam menentukan sukses atau tidaknya produk fermentasi pangan lokal. Setiap mikroorganisme memiliki pH minimum, maksimum, dan optimum. Pada kondisi pH di bawah minimum, mikroba akan berhenti tumbuh dan mati. Mekanisme kematian tersebut disebabkan oleh asam lemah yang tidak terdisosiasi akan ikut masuk ke dalam sitoplasma sel (Gambar 1). Sitoplasma pada umumnya memiliki pH netral, maka asam lemah akan membentuk kesetimbangan baru (terdisosiasi dan tidak terdisosiasi). Selanjutnya, pH di dalam sitoplasma

akan turun, sehingga kesetimbangan proton di dalam sel dan di lingkungannya terganggu. Selama dalam kondisi tersebut, mikroba tidak mampu bermetabolisme sementara cadangan energinya akan digunakan untuk mendorong H^+ ke luar (Doyle dan Buchanan, 2012; Adam dan Moss, 2008).



Gambar 6. Pengaruh Asam Terdisosiasi terhadap Sel Mikroba dalam Proses Fermentasi Produk Pangan Tradisional

Sumber: Doyle dan Buchanan, 2012

Peranan lain dari kondisi pH lingkungan dalam menentukan sukses atau tidaknya produk fermentasi pangan lokal adalah dalam ekspresi gen dalam mikroba. Ekspresi gen yang dipengaruhi pH ini kemudian akan berdampak pada perpindahan proton, degradasi asam amino, adaptasi terhadap kondisi asam-basa, dan faktor virulensi (keganasan) dari mikroba tersebut. Kondisi pH juga berpengaruh terhadap kemampuan reproduksi dan metabolisme intraseluler. Pada pH yang tidak ideal, dibutuhkan banyak energi untuk menyerap nutrisi dari luar, membuang nutrisi dari dalam, sehingga kemampuan berkembang biak menurun. Untuk bertahan

hidup dari kondisi pH yang tidak menguntungkan, beberapa strain mikroba dapat melakukan respons homeostasis, *acid tolerance response* (ATR), dan sintesis protein penghambat asam (Doyle dan Buchanan, 2012).

Tabel 5 Beberapa Kisaran pH Minuman untuk Kelompok Mikroba dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal

pH	Kelompok Mikroba	pH	Kelompok Mikroba
1,5-9	Jamur (kapang)	2,0-8,5	Kamir
4,0-8,5	Bakteri Gram positif	4,5-9,0	Bakteri Gram negatif
3,8	<i>Pediococcus acidilacti</i>	4,5	<i>Staphylococcus aureus</i>

Sumber: Ray dan Bhunia, 2014

Kombinasi pH dan Aw akan mengubah kriteria minimum untuk pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi pangan lokal. Pada umumnya apabila pH lebih rendah, maka Aw minimum yang dibutuhkan menjadi lebih tinggi dibandingkan Aw minimum pada pH netral. Sebagai contoh, sebuah strain bakteri mempunyai Aw minimum 0,91 pada pH 6.8. Namun saat pH diturunkan menjadi 5,5; Aw minimum yang dibutuhkan untuk hidup menjadi 0,95. Kombinasi Aw dan pH merupakan salah satu teknik penghambatan gabungan yang populer digunakan dalam pengawetan pangan. Terminologi ini diperkenalkan dengan istilah *hurdle preservation technology* (Ray dan Bhunia, 2014).

Potensial Redoks (Reduksi-oksidasi) memiliki peranan dalam menentukan sukses atau tidaknya produk fermentasi pangan lokal. Potensial Redoks mengukur perbedaan potensial (positif-negatif ion) di dalam sebuah sistem yang ditimbulkan akibat reaksi timbal balik pada

sebuah kesetimbangan reaksi, yaitu sebuah senyawa akan teroksidasi (oksidan) dan senyawa yang lain akan tereduksi (reduktan). Senyawa yang mendonasikan elektronnya disebut reduktor, sementara senyawa yang mendapat tambahan elektron disebut oksidator. Potensial redoks, Eh, diukur dalam unit elektrik yaitu milivolt, mV (Ray dan Bhunia, 2014; Adam dan Moss, 2008).

Potensial redoks dalam bahan pangan dipengaruhi oleh komposisi kimiawi, seperti keberadaan senyawa pereduksi, misalnya asam askorbat, gula pereduksi, gugus -SH dari protein, perlakuan saat proses produksi, dan kondisi penyimpanan, berkenaan dengan komposisi gas/udara. Saat proses respirasi terhenti di dalam sel dari bahan makanan, oksigen akan berdifusi ke dalam sel dan mengubah potensial redoks bahan pangan tersebut. Produk yang disimpan pada kondisi normal akan memiliki nilai Eh yang lebih tinggi dari produk yang divakum atau disimpan pada komposisi gas tertentu (*modified, atmosphere storage, MAS*) (Doyle dan Buchanan, 2012).

Proses fermentasi produk pangan lokal pada umumnya terjadi dalam kondisi ketersediaan oksigen yang cukup. Oksigen dapat berada dalam bentuk gas atau bentuk terdisosiasi dalam bahan pangan. Berdasarkan kemampuan memanfaatkan oksigen, maka mikroba dapat digolongkan menjadi aerobik (Eh +500 s.d. +300 mV), anaerobik (Eh +100 s.d -250 mV atau kurang), anaerobik fakultatif (Eh +300 s.d. -100 mV), dan mikro

aerofilik. Pada mikroba anaerobik fakultatif, energi dapat dibentuk dengan memanfaatkan oksigen. Akan tetapi, saat oksigen tidak tersedia, maka mikroba ini dapat memanfaatkan oksigen dalam bentuk terikat seperti NO_3 dan SO_4 sebagai reseptor elektronnya (Ray dan Bhunia, 2014).

Beberapa mikroba yang terlibat dalam proses fermentasi produk lokal dapat digolongkan dalam kelompok mikroorganisme anaerobik. Mikroorganisme anaerobik pada umumnya tidak mempunyai gabungan enzim katalase dan super oksida dismutase yang berperan membuang metabolit yang bersifat toksik dari molekul oksigen, misalnya hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal anion super oksida (O_2^-) (Adam dan Moss, 2008).

Tabel 6 Kelompok Mikroba dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal Dilihat dari Kemampuan Memanfaatkan Oksigen dan Potensial Redoksnya

Kelompok	Contoh Mikroba	Kelompok	Contoh Mikroba
Aerobik	Kapang, kamir, <i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Moraxella</i>	Anaerobik	<i>Clostridium</i>
Anaerobik fakultatif	BAL, <i>Enterobacteriaceae</i>	Mikro aerofilik	<i>Camphylobacter</i>

Sumber: Ray dan Bhunia, 2014.

Beberapa bahan pangan memiliki komponen non-nutrisi yang dapat menunjang pertumbuhan mikroba tertentu. Sebagai contoh ekstrak tomat sering ditambahkan dalam medium deMann Rogosa Sharpe Agar untuk menstimulasi pertumbuhan beberapa spesies *Lactobacillus*. Faktor-faktor pertumbuhan ini biasanya ditambahkan dalam bahan pangan untuk

beberapa kepentingan, yaitu meningkatkan efisiensi pada proses fermentasi (*bioprocessing*), atau penggunaan media sintesis untuk mendapatkan isolat bakteri yang memerlukan nutrisi sangat kompleks sehingga dapat hidup atau tumbuh lebih cepat dari pesaingnya (Ray dan Bhunia, 2014).

Beberapa bahan pangan juga memiliki komponen kimiawi, secara alamiah ataupun ditambahkan, yang menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Sebagai contoh, sekalipun telur memiliki kandungan nutrisi yang lengkap, tetapi telur juga memiliki lisozim, sebuah enzim yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Pada susu, mekanisme pertahanannya terhadap mikroba tertentu bergantung dari komponen protein aglutinin. Contoh lain, rempah-rempah memiliki banyak komponen penghambat pertumbuhan mikroba, misalnya eugenol pada cengkeh. Komponen penghambat ini memiliki tiga modus kerja terhadap mikroba tertentu, yaitu mencegah pertumbuhan, menghambat pertumbuhan, dan membunuh mikroba lain (Ray dan Bhunia, 2014).

Faktor Ekstrinsik

Faktor ekstrinsik memainkan peranan yang sangat besar dalam kesuksesan fermentasi produk pangan lokal. Faktor ekstrinsik berarti keadaan lingkungan yang dapat berubah dikarenakan entitasnya tidak melekat pada lingkungan (media) tempat tumbuh mikroba, melainkan

dikarenakan kondisi di sekitar media tersebut. Faktor ekstrinsik terjadinya fermentasi pangan lokal terdiri dari kelembaban relatif (RH), temperatur, dan komposisi gas. RH berkaitan erat dengan faktor intrinsik aktivitas air, di mana RH didefinisikan sebagai aktivitas air dalam fase gas. Saat bahan baku untuk fermentasi pangan lokal dengan aktivitas air yang rendah disimpan pada kondisi lingkungan yang berkelembapan relatif tinggi, maka uap air akan berpindah dari udara ke produk. Untuk mencapai kesetimbangan antara RH produk dan RH lingkungan dibutuhkan waktu yang cukup lama. Pengembunan, sebagai gejala berlebihannya uap air yang mampu dibawa oleh udara, dapat terjadi di permukaan produk yang memberikan peningkatan signifikan pada A_w di permukaan produk secara terbatas. Terdapatnya embun, menyebabkan terjadinya inisiasi pertumbuhan mikroba di sekitar permukaan produk tersebut (Adam dan Moss, 2008).

Fermentasi produk pangan lokal pada umumnya terjadi di suhu ruang. Namun ada pula yang memerlukan suhu lingkungan yang dingin, biasanya dilakukan untuk pematangan flavor dari pangan yang difermentasi. Pertumbuhan mikroba dan metabolisme selulernya memanfaatkan beberapa reaksi enzimatik. Sampai dengan suhu optimumnya, setiap kenaikan 10°C , kecepatan katalistik dari suatu enzim akan meningkat dua kali lipat. Apabila dibalik, penurunan suhu sebanyak 10°C menyebabkan enzim bekerja setengah kali dari kecepatan pada

kondisi sebelum suhu diturunkan. Dikarenakan temperatur mempengaruhi kecepatan reaksi enzimatik, maka temperatur memegang peranan penting dalam proses fermentasi produk pangan lokal (Ray dan Bhunia, 2014; Adam dan Moss, 2008).

Tabel 7 Mikroba Penting dalam Proses Fermentasi Pangan Lokal menurut Temperatur Fermentasinya

Grup	Temperatur (°C)		
	Minimum	Optimum	Maksimum
Termofilik	40-45	55-75	60-90
Mesofilik	5-15	30-40	40-47
Psikrofilik	-5 - +5	12-15	15-20
Psikrotrop	-5 - +5	25-30	30-35

Sumber: ICMSF, 2005; Adam dan Moss, 2008.

Beberapa gas yang dominan dalam proses fermentasi adalah O₂, CO₂, dan SO₂. Fermentasi produk pangan lokal yang umumnya terjadi tanpa adanya perubahan komposisi gas, sehingga faktor ekstrinsik gas menjadi kurang relevan dalam fermentasi pangan lokal. Namun, ada kalanya komposisi gas dalam pembotolan hasil fermentasi pangan lokal yang mempengaruhi kualitas flavor dan kemungkinan cemaran yang dapat tumbuh dan berkembang. Kadar oksigen mempengaruhi potensial redoks dari bahan pangan (Doyle dan Buchanan, 2012). Karbon dioksida memiliki efek penghambatan pertumbuhan pada beberapa mikroorganisme. Selain itu, CO₂ juga digunakan untuk meningkatkan tekanan (hiperbarik) pada air mineral berkarbonasi dan *soft drink*. Pada *soft drink*, bakteri pembusuk tahan CO₂ diantaranya *Brettanomyces*, *Dekkera*, *Candida davenportii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Isatchenia occidentalis*, dan *Lactobacillus*

perolens (Adam dan Moss, 2008). Dalam beberapa produk fermentasi, SO₂ ditambahkan dengan maksud mengubah komposisi gas dan menimbulkan efek racun pada mikroba. Penggunaan SO₂ umum ditemukan pada anggur beralkohol bertujuan untuk menghambat mikroba pembusuk (*spoilage microorganism*) diantaranya *Acetobacter*. Akan tetapi *Zygosaccharomyces bailii* dapat bertahan pada kondisi sulfur dioksida tinggi, dan mencemari anggur beralkohol (Fleet, 2003).

TEKNOLOGI KULTUR PEMULA

Fermentasi Induktif Terkontrol

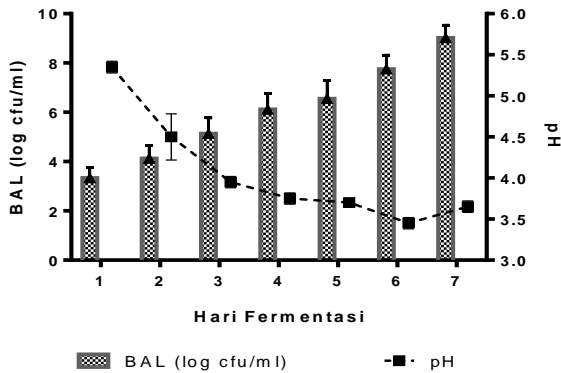
Proses fermentasi menggunakan kultur pemula dikenal juga dengan fermentasi induktif, yaitu fermentasi yang diinduksi dengan kultur pemula (*starter*) dengan faktor intrinsik dan ekstrinsik yang terkontrol. Pemeliharaan kultur pemula dilakukan dengan melakukan rejuvinasi kultur dan perbanyakkan kultur sesuai dengan metode yang diterapkan di masing-masing industri, sehingga kultur pemula tersedia dalam konsentrasi tinggi (10⁶ CFU/g atau lebih). Penggunaan kultur pemula berarti bahan pangan lokal diinokulasikan dengan kultur tunggal atau campuran murni pada konsentrasi yang optimum untuk pertumbuhan kultur tersebut dibandingkan mikroba lainnya. Derajat keasaman, nutrisi, A_w, dan suhu inkubasi diatur pada kondisi paling optimum pertumbuhan kultur tersebut. Keuntungan fermentasi induktif dibandingkan dengan fermentasi alami

adalah proses fermentasi lebih dapat diprediksikan waktu dan karakteristik produk akhirnya dan kecil kemungkinan kegagalan fermentasi ataupun tercemar patogen. Kerugian yang mungkin timbul akibat penggunaan kultur pemula adalah kehilangan mikro flora sekunder yang mungkin memberikan cita rasa khas (Ray dan Bhunia, 2014).

Sebagai contoh, terdapat tiga isolat kandidat kultur pemula isolasi BAL dari *Jaruk Tegarun* yang berbentuk batang, gram positif, dan katalase negatif. Identifikasi lebih lanjut berdasarkan *Bergey's Manual Identification for Gram positive* dengan menguji pertumbuhan isolat pada suhu 15°C dan 45°C. Hasilnya, semua isolat mampu tumbuh pada suhu 15°C, sedangkan pada suhu 45°C hanya isolat satu isolat (JBS 6.31) yang tidak mampu tumbuh. Menurut *Bergey's Manual*, *Lb. plantarum* mempunyai sifat homofermentatif dan mesofilik. Hasil ini menunjukkan bahwa fermentasi *Jaruk Tegarun* dapat digunakan kultur pemula dari *Lb. Plantarum* (Rahmi *et al*, 2016).

Penggunaan kultur pemula *Lb. casei* untuk fermentasi produk lokal mandai cempedak memiliki karakteristik fermentasi yang lebih cepat dibandingkan fermentasi spontan, dengan karakteristik pH 3.5 dan total BAL mencapai sekitar 10⁹ CFU/g (sekitar 99% populasi total bakteri) setelah fermentasi selama 7 hari. Dari parameter pH dan total BAL diperoleh bahwa waktu optimum fermentasi adalah 6 hari dengan total BAL mencapai sekitar 10⁸ CFU/g (Rahmadi *et al*, 2017).

Fermentasi produk pangan lokal dengan teknologi kultur pemula memerlukan persiapan bahan baku, kultur pemula, dan kondisi fermentasi. Beberapa upaya yang sering dilakukan adalah pasteurisasi bahan baku untuk membunuh mikroba awal, penambahan stimulan atau bahan tambahan pemicu pertumbuhan kultur pemula tanpa banyak terlalu mengubah cita rasa. Umumnya bahan tambahan yang diberikan berupa unsur nutrisi mikro, yaitu vitamin dan mineral. Selain itu, lingkungan kerja perlu untuk disiapkan dalam kondisi aseptik dan higienis (Ray dan Bhunia, 2014).



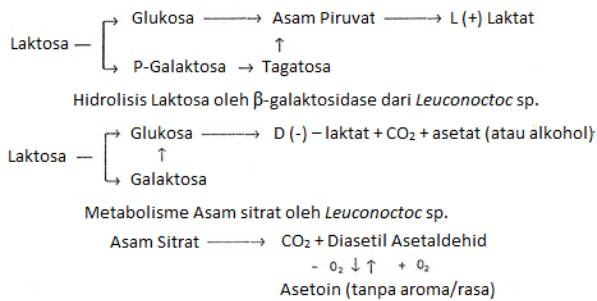
Gambar 7. Pertumbuhan Kultur Pemula pada Mandai Cempedak di Suhu 37 °C

Persiapan kultur untuk fermentasi produk pangan lokal dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu pemilihan kultur pemula, pembuatan kultur induk, penyiapan kultur kerja yang diambil dari kultur induk, penyegaran kultur pemula dengan mengembangbiakkan pada medium antara yang

mendekati komposisi bahan pangan, dan perbanyak kultur kerja disiapkan dalam volume yang cukup (sekitar 2-3% dari volume bahan yang akan di proses) dan pada konsentrasi yang tinggi (10^6 CFU/g atau lebih) (Ray dan Bhunia, 2014).

Di dunia industri pangan, penggunaan kultur pemula sudah jamak dilakukan, utamanya pada produk hasil fermentasi susu, misalnya susu fermentasi (mentega susu, Yakult, atau yoghurt) dengan kultur pemula BAL: *Lactobacillus bulgaricus*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium spp.*, *Leuconostoc cremoris*, *Lactococcus lactis*, *Lac. diacetylactis*. Keju merupakan produk fermentasi asal Eropa yang telah mendunia. Fermentasi BAL dalam produk keju dibantu oleh *Lac. lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* (Cottage), *Streptococcus thermophilus*, *Lb. delbrueckii* (Mozarella), *Lb. helveticus*, *Propionibacterium spp.*, *Enterococcus* (Swiss), *Penicillium roquefortii* (Blue), *Lac. lactis*, *Penicillium*, dan kamir (Brie) (Ray dan Bhunia, 2014).

Untuk menghasilkan performa fermentasi yang konsisten dari sisi karakteristik produk, utamanya kadar nutrisi makro, aroma dan cita rasa produk, diperlukan pengaturan-pengaturan terhadap parameter pH, A_w , nutrisi awal, suhu, dan waktu fermentasi. Sebagai contoh, pengaturan biokimia mentega susu fermentasi tercantum dalam Gambar 3.



Gambar 8. Kontrol Nutrisi pada Proses Fermentasi Mentega dengan Pengaturan Nutrisi Awal

Sumber: Ray dan Bhunia, 2014.

Fermentasi Induktif BAL Meningkatkan Kandungan Antioksidan

BAL dapat berfungsi meningkatkan bioavailabilitas antioksidan fenolik yang terikat pada serat tidak larut diperlukan mikroorganisme yang memiliki enzim untuk mendegradasi serat. Rerata total BAL pada media fermentasi bekatul dan susu skim jam ke-0 berkisar $6,0 \times 10^7$ - $2,0 \times 10^8$ CFU/ml dan pada jam ke-12 mengalami peningkatan menjadi berkisar $4,0 \times 10^9$ - $3,7 \times 10^{11}$ CFU/ml. Pengaruh media fermentasi terhadap pertumbuhan isolat BAL probiotik, selama fermentasi BAL akan memanfaatkan nutrisi seperti karbohidrat, protein dan serat pangan pada bekatul sebagai sumber energi untuk pertumbuhan, pembentukan sel dan biosintesis produk-produk metabolit. Ketersediaan komponen makro nutrisi seperti protein, gula dan karbohidrat pada bekatul telah mencukupi kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan BAL sehingga kadar komponen makro nutrisi yang tinggi pada susu skim tidak memberikan pengaruh terhadap laju pertumbuhan BAL. Selain itu, unsur mikro nutrisi pada

bekatul yang meliputi vitamin dan mineral selama proses fermentasi terjadi penurunan derajat keasaman karena akumulasi asam-asam organik yang dihasilkan akibat metabolisme mikroba pada media fermentasi, diantaranya asam laktat yang menyebabkan terjadinya penurunan pH. Nilai pH media fermentasi juga ditentukan oleh sifat dan karakteristik dari asam organik yang dihasilkan oleh BAL (Zubaidah *et al*, 2010).

Aktivitas antioksidan sejalan dengan nilai total fenol dan total flavonoid, semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi mengakibatkan aktivitas antioksidan semakin tinggi. Peningkatan aktivitas antioksidan dapat terjadi diduga karena adanya aktivitas BAL dalam medium. Selama fermentasi dihasilkan senyawa – senyawa yang dapat menaikkan dan menstabilkan aktivitas antioksidan seperti asam laktat, asam asetat, asam sitrat, asam suksinat, asam malat, asetaldehid, diasetil dan asetoin.

Aktivitas antioksidan minuman probiotik sari buah kurma berkisar antara 47.5% - 56.3%. Pengaruh perlakuan proporsi buah, air dan lama fermentasi. Hal tersebut berkaitan dengan kandungan gula yang ada. Adanya sintesis gula yang banyak oleh BAL mengakibatkan senyawa fenol yang terbebaskan semakin banyak sehingga aktivitas antioksidannya meningkat. Perombakan gula menjadi asam laktat oleh BAL yang bersifat sinergistik dengan memberikan ion H^+ pada radikal bebas, sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan primer (Anita, 2012). Peningkatan

aktivitas antioksidan dengan waktu fermentasi yang semakin lama diduga terjadi karena semakin banyak senyawa fenol dan flavonoid yang terbebaskan akibat hidrolisis gula oleh enzim BAL (Bublis, 2000). Fenomena ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa banyaknya total fenol atau total flavonoid yang dikandung berhubungan dengan efektivitas aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Primurdia dan Kusnadi, 2014).

Hasil penelitian Katina *et al* (2007) pada kulit beras (*rice bran*) yang difermentasi dengan menggunakan BAL (BAL) menunjukkan peningkatan asam folat, total fenol dan asam firulat. Reaksi oksidasi dari proses fermentasi juga menyebabkan polifenol beraksi sebagai antioksidan untuk melawan reaksi oksidasi tersebut. Aktivitas merantas (*scavenging*) terhadap radikal bebas tertinggi terdapat pada perlakuan dengan jumlah kultur pemula 15%. Sel dari kultur BAL sendiri memiliki kemampuan merantas radikal bebas, karena sebagian besar komponen antioksidan pada kefir terakumulasi pada biji kefir (*kefir grain*) (Liu *et al*, 2004; Supriyono, 2008).

Terjadinya peningkatan aktivitas antioksidan ini diduga karena selama fermentasi dihasilkan senyawa-senyawa yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan seperti adanya asam organik yang diproduksi oleh *Lactobacillus casei* selama fermentasi. Asam organik tersebut bersifat sinergis dengan memberikan ion H⁺ pada radikal bebas sebagaimana yang

telah diterangkan sebelumnya. Tingginya aktivitas perangasan radikal bebas pada beras merah disebabkan adanya senyawa poliasil-antosianin yang merupakan senyawa perangas utama di antara komponen-komponen bioaktif lainnya (Zubaidah et al, 2010).

Rangkuman Sifat Fungsional Produk Makanan Lokal Hasil Fermentasi

Secara umum, pangan lokal hasil fermentasi yang berasal dari Kalimantan Timur dapat memanfaatkan kultur pemula untuk meningkatkan kualitas senyawa anti mikroba, kemampuan probiotik/prebiotik, kadar polifenol/flavonoid, potensi aktivitas antioksidan, dan cita rasa produk (Tabel 8). Sebagai tindak lanjut dari pengujian di tingkat laboratorium, diperlukan suatu strategi untuk mengoleksi isolat-isolat mikroba lokal yang terlibat dalam proses fermentasi pangan lokal asal Kalimantan Timur sebagai upaya untuk memperbaiki kualitas fungsionalnya. Kemudian, isolat-isolat ini diseleksi untuk dapat dijadikan sebagai isolat khas daerah yang dipergunakan sebagai kultur pemula dalam proses fermentasi pangan lokal.

Tabel 8 Peningkatan Sifat Fungsional Produk Makanan Lokal hasil Fermentasi dengan Kultur Pemula

Makanan Lokal	Sifat Fungsional	Metode Peningkatan Kualitas	Kultur Pemula
<i>Virgin coconut oil</i>	Senyawa anti mikroba berasal dari asam lemak jenuh rantai pendek (asam laurat)	Penggunaan kultur pemula bakteri asam laktat mampu meningkatkan senyawa anti mikroba antara 27 dan 51% dibandingkan kontrol positif antibiotik	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. casei</i>
<i>Mandai Cempedak, Jaruk Tegarun, Tempoyak durian</i>	Probiotik/prebiotik dari kultur alami <i>Lb. plantarum</i> dan <i>Leuconostoc sp.</i>	Penggunaan kultur pemula meningkatkan kadar polifenol dengan marker flavonoid dan potensi aktivitas antioksidan dengan marker DPPH.	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Lb. Casei</i>
<i>Biji Kakao</i>	Komponen fungsional turunan polifenol terbukti memiliki kemampuan protektif anti-kanker	Penggunaan kultur pemula meningkatkan kadar polifenol dan potensi aktivitas antioksidan dengan marker DPPH, serta mengurangi prevalensi cemaran jamur	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Acetobacter aceti</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i>
<i>Telu' Ikan</i>	Probiotik/prebiotik dari kultur alami BAL	Peningkatan total BAL setelah penambahan kultur pemula. Peningkatan sifat fungsional lain perlu dikaji lebih lanjut.	Perlu diteliti lebih lanjut

UPAYA MODERNISASI PANGAN LOKAL HASIL FERMENTASI

Makanan tradisional pada umumnya memiliki kelemahan dalam hal keamanannya terhadap bahaya biologi, mikrobiologi, kimia, dan fisik. Adanya bahaya atau cemaran sering kali terdapat dan ditemukan karena mutu bahan baku yang kurang baik, teknologi pengolahan yang kurang diimplementasikan, praktik sanitasi dan higienis yang kurang memadai dan kesadaran pekerja maupun produsen yang menangani makanan tradisional yang rendah. Pembuatan produk pangan fermentasi secara tradisional biasanya dilakukan di tempat terbuka dan menggunakan peralatan yang kurang higienis. Upaya pencegahan dapat dilakukan den

gan menghindari kontak langsung dengan pekerja dan lingkungan, melakukan pasteurisasi, dan menerapkan prosedur sanitasi dan higiene dalam setiap penanganan pangan sesuai dengan *Good Manufacturing Procedure* (GMP). Indikator keberhasilan utama, sanitasi dan higiene pekerja yang harus diperhatikan dengan baik agar hasil dari proses fermentasi adalah sesuai dengan yang diharapkan.

Upaya lain yang dapat dilakukan adalah penggunaan panas pada proses untuk menghambat bakteri patogen yaitu dapat dilakukan dengan cara pasteurisasi dan blansir pada awal proses. Selain itu, peningkatan kualitas proses fermentasi pangan lokal dapat dilakukan dengan penggunaan aerasi dan pengadukan dalam fermentasi berkelanjutan, penggunaan senyawa atau komponen yang berfungsi sebagai media seleksi

atau penghambat patogen, dan perlakuan awal atau blansir yang berfungsi untuk menghilangkan senyawa non-nutrisi penghambat yaitu komponen alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan kultur pemula.

Sanitasi dan Higiene Pekerja

Pangan merupakan sumber nutrisi yang penting bagi makhluk hidup, termasuk mikroba. Pengolahan yang kurang saniter dan higienis dapat mengakibatkan terkontaminasinya pangan oleh mikroba patogen dan pembusuk, yang nantinya dapat menurunkan produksi dan kualitas pangan lokal (Hariyadi dan Hariyadi, 2009; Chayaningsih, 2009). Sebagai contoh, *S. aureus* adalah bakteri patogen yang dapat ditemukan pada pengolahan pangan apabila sanitasi dan higienis dari pekerja kurang mendapat perhatian. Produk olahan tradisional seperti susu, santan, kulit buah cempedak, dan Telu' Ikan merupakan media kompleks yang disukai untuk pertumbuhan bakteri. Sumber kontaminasi utama *S. aureus* adalah kontaminasi silang dari pekerja (Tahaku, 2014). Menurut Kusmayadi (2007) terdapat empat hal penting yang menjadi prinsip higiene dan sanitasi makanan meliputi perilaku sehat dan bersih orang yang mengelola makanan, sanitasi makanan, sanitasi peralatan dan sanitasi tempat pengolahan. Perilaku saniter dan higienis adalah faktor penting dalam setiap proses pembuatan produk yang diaplikasikan dalam proses pengolahan, peralatan, lingkungan, dan pekerja (Yuwono, 2012).

Penggunaan Panas untuk Menghambat Bakteri Patogen

Bakteri patogen adalah mikroorganisme yang merugikan selain dapat merusak makanan secara fisik dan kimia juga dapat menyebabkan dampak negatif terhadap kesehatan. Bakteri patogen ini dapat ditemukan pada makanan yang memiliki jumlah nutrisi yang cukup baik sebagai media pertumbuhannya. Sebagai contoh mengatasi pertumbuhan bakteri patogen di Industri Pangan, penanganan usaha pengawetan susu adalah dengan perlakuan pemanasan sedang atau pasteurisasi. Panas yang digunakan tidak merusak pangan secara fisik dan kimia tetapi mampu menghambat atau mematikan bakteri patogen (Herawati, 2013).

Penambahan Kultur Pemula

Penambahan dan pemurnian inokulasi kultur pemula perlu dilakukan agar hasil akhir fermentasi sesuai dengan apa yang diharapkan. Penambahan kultur pemula ini yang berfungsi untuk meningkatkan hasil dan menjaga kualitas proses fermentasi (Yasir, 2017). Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh strategi umum peningkatan sifat fungsional produk makanan lokal hasil fermentasi dengan penggunaan kultur pemula. Strategi pertama adalah pengolahan pangan dengan lebih higienis, sehingga mendukung faktor ekstrinsik pertumbuhan kultur pemula agar dapat tumbuh dan optimum menghasilkan metabolit fungsional selama proses fermentasi. Strategi kedua adalah menggunakan

kultur pemula yang tepat dan lebih berkualitas dibandingkan dengan kultur spontan yang ada di bahan baku pangan lokal tersebut. Strategi ketiga adalah penggunaan suhu fermentasi yang optimum dan penambahan bahan stimulan untuk mempromosikan pertumbuhan kultur pemula di pangan lokal yang akan difermentasi.

Sebagai contoh, dalam proses pembuatan cuka tradisional, konsentrasi inokulum yang berbeda (0%, 5%, 10%, dan 15%) akan berpengaruh pada kadar asam asetat yang dihasilkan. Kadar asam asetat yang dihasilkan terbanyak pada perlakuan 10% yaitu dengan pemberian *Acetobacter aceti* sebanyak 10%. Kadar asam asetat terendah terdapat pada perlakuan pemberian *Acetobacter aceti* sebanyak 5% (Ni'maturrohmah, 2014).

Dalam pembuatan yoghurt tradisional, lama inokulasi juga menentukan keberhasilan inokulasi bakteri. Semakin lama waktu inokulasi, peluang infeksi semakin tinggi (Pardal *et al*, 2004). Hal ini mungkin disebabkan karena semakin banyak substrat dan inokulum (kultur pemula yoghurt) yang digunakan sehingga jumlah asam laktat juga semakin besar. Asam laktat merupakan hasil metabolisme bakteri pada kultur pemula yoghurt (*Lb. bulgaris* dan *Streptococcus thermophilus*), yang mana laktosa sebagai sumber karbon utamanya (Agustina dan Andriana, 2010).

Penambahan Senyawa Stimulan

Penambahan laktosa dapat menjadi pemicu pertumbuhan BAL. Laktosa merupakan bahan substantif dalam proses fermentasi BAL, sehingga penambahan laktosa di dalam proses fermentasi akan meningkatkan kecepatan tumbuh dari BAL (Leroy dan De Vyust, 2004). *Lb. plantarum* menggunakan laktosa untuk menyintesis asam laktat. Selain asam laktat, BAL akan menghasilkan hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin. Penambahan stimulan lain seperti jus pisang dapat meningkatkan kualitas cuka makan yang dihasilkan dari fermentasi BAA (Trinh *et al*, 2016).

Penggunaan Aerasi dan Pengadukan

Pengadukan akan mempengaruhi proses fermentasi pangan lokal yang memerlukan aerasi yang cukup. Sebagai contoh, dalam proses fermentasi alkoholis dan asam asetat seperti pada fermentasi nira, banyak sedikitnya oksigen yang berinteraksi pada nira yang difermentasi akan mempengaruhi asam cuka yang dihasilkan. Kadar oksigen dan lama fermentasi mempengaruhi kadar asam cuka yang dihasilkan. Waktu yang diperlukan untuk menghasilkan kadar asam cuka optimal pada fermentasi nira aren yang diaerasi masing-masing pada hari ke-18, 16 dan 8 dengan kadar berturut-turut sebesar 4,292, 5,704, dan 4,644 g/100mL. Cuka yang dihasilkan pada fermentasi nira aren yang diaerasi selain lebih cepat juga

memenuhi standar mutu ditinjau dari bentuk, bau dan kadar asam cuka (Nugroho, 2012).

Perlakuan Awal Penghilangan Senyawa Non-Nutrisi

Beberapa bahan baku pangan lokal mengandung senyawa anti-nutrisi seperti dari kelompok alelopati. Keberadaan senyawa ini secara alamiah diperlukan untuk perlindungan bahan baku terhadap mikroba pembusuk. Akan tetapi, dalam proses fermentasi pangan lokal, senyawa-senyawa anti-nutrisi ini perlu untuk direduksi terlebih dahulu. Sebagai contoh, cempedak merupakan tanaman yang memiliki getah yang cukup banyak. Getah yang dihasilkan merupakan senyawa alkaloid yang akan berdampak pada proses pembuatan mandai saat fermentasi. Oleh sebab itu, perlakuan menurunkan kadar alkaloid pada mandai dapat dilakukan dengan pemblansiran. Di produk lain, pemblansiran berfungsi untuk menonaktifkan enzim dan mempertahankan warna agar cenderung tetap dan tekstur agar tidak terlalu lunak.

KESIMPULAN

Peningkatan kualitas fungsional produk fermentasi lokal dengan kultur pemula dapat dilakukan dengan teknologi sederhana di tingkat UKM. Di antara produk-produk tersebut yang telah menjadi kajian secara intensif adalah produk hasil fermentasi BAL, seperti *Virgin Coconut Oil*

(VCO), *Mandai Cempedak*, *Jaruk Tegarun*, dan *Telu' Ikan (pekasam, wadi)*. Secara umum, pangan lokal hasil fermentasi yang berasal dari Kalimantan Timur dapat memanfaatkan kultur pemula untuk meningkatkan kualitas senyawa anti mikroba, kemampuan probiotik atau prebiotik, kadar polifenol, potensi aktivitas antioksidan, dan cita rasa produk. Penambahan kultur pemula berfungsi untuk meningkatkan hasil dan menjaga kualitas proses fermentasi. Dikarenakan proses fermentasi hanya akan terjadi apabila kondisi inkubasi menyediakan kesempatan untuk mikroba yang diinginkan berkembang, maka diperlukan strategi-strategi yang sesuai dengan *Good Manufacturing Procedure (GMP)* sederhana. Strategi pertama adalah pengolahan pangan dengan lebih higienis, sehingga mendukung faktor ekstrinsik pertumbuhan kultur pemula agar dapat tumbuh dan optimum menghasilkan metabolit fungsional selama proses fermentasi. Strategi kedua adalah menggunakan kultur pemula yang tepat dan lebih berkualitas dibandingkan dengan kultur spontan yang ada di bahan baku pangan lokal tersebut. Strategi ketiga adalah penggunaan suhu fermentasi yang optimum dan penambahan bahan stimulan untuk mempromosikan pertumbuhan kultur pemula di pangan lokal yang akan difermentasi. Penggunaan kultur pemula bakteri asam laktat di produk VCO-BAL mampu meningkatkan senyawa anti mikroba antara 27 dan 51% dibandingkan kontrol positif antibiotik. Penggunaan kultur pemula di produk *Mandai Cempedak*, *Tempoyak*, dan *Jaruk*

Tegarun meningkatkan kadar polifenol dengan *marker* flavonoid dan potensi aktivitas antioksidan dengan *marker* DPPH. Penggunaan kultur pemula pada biji kakao meningkatkan kadar polifenol dan potensi aktivitas antioksidan dengan *marker* DPPH, serta mengurangi prevalensi cemaran jamur. Peningkatan total BAL pada *Telu' Ikan* sebagai sumber probiotik ataupun prebiotik terjadi setelah penambahan kultur pemula, dan peningkatan sifat fungsional lain perlu dikaji lebih lanjut. Sebagai tindak lanjut dari pengujian di tingkat laboratorium, diperlukan suatu strategi untuk mengoleksi isolat-isolat mikroba lokal yang terlibat dalam proses fermentasi pangan lokal asal Kalimantan Timur sebagai upaya untuk memperbaiki kualitas fungsionalnya. Kemudian, isolat-isolat ini diseleksi untuk dapat dijadikan sebagai isolat khas daerah yang dipergunakan sebagai kultur pemula dalam proses fermentasi pangan lokal.

POLIFENOL SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN PRODUK FERMENTASI BAL ASAL TUMBUHAN

**Frio Handayani, Kartika Sari, Sulistyo Prabowo, Indah Trijumiarti,
Siti Nurdiana, Anton Rahmadi**

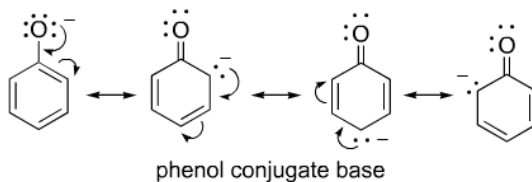
Artikel ini merupakan bagian Tinjauan Pustaka Skripsi a.n. Frio Handayani, lulus tahun 2018 dan Kartika sari, lulus tahun 2017, yang dibiayai melalui Hibah Penelitian PPT-PSNI tahun 2017-2018 a.n. Anton Rahmadi. Sebagian kecil diambil dari tinjauan pustaka skripsi a.n. Indah Trijumiarti dan Siti Nurdiana yang dibiayai melalui Hibah Penelitian PUPT tahun 2018-2019 a.n. Anton Rahmadi.

PENDAHULUAN

Fitokimia merupakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam (Tjandra *et al.*, 2011). Senyawa fitokimia tidak termasuk ke dalam zat gizi karena bukan berupa karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral maupun air. Rorong *et al.* (2012) menyebutkan bahwa bahan alam seperti tanaman baik *edible* dan *non edible* mengandung sejumlah besar fitokimia yaitu senyawa fenolik seperti asam fenolat, flavonoid, tanin, lignin dan senyawa yang non fenolik seperti karotenoid, vitamin C (asam askorbat) yang memiliki substansi antioksidan dan aktivitas antiradikal bebas.

SENYAWA FENOLIK

Senyawa Fenolik adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik yang berasal dari tumbuhan dengan satu atau lebih gugus hidroksil (Rahmawati, 2015). Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana adalah orsinol, 4-metilresolsinol, 2-metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogalol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Doughari, 2012). Sisein (2014) menyatakan bahwa mekanisme antioksidan senyawa polifenol didasarkan pada kemampuan sumbangan hidrogen dan ion logam pengelat. Setelah menyumbangkan atom hidrogen, senyawa fenolik menjadi resonansi-stabil radikal yang tidak mudah berpartisipasi dalam reaksi radikal lainnya.



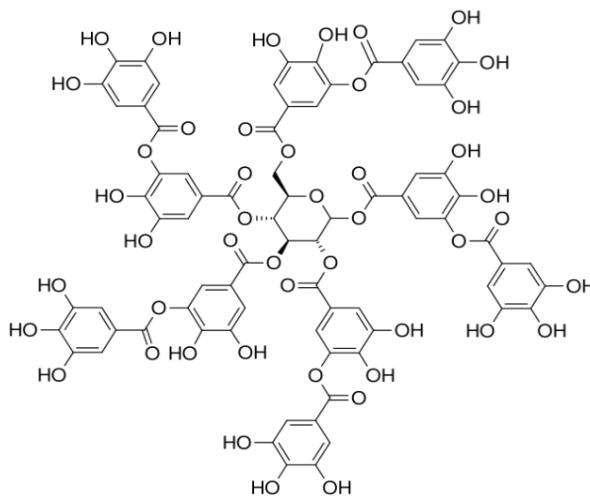
Gambar 9. Proses Resonansi Senyawa Fenolik

Sumber: <http://www.chemhelper.com/acidbase2.html>

TANIN

Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty et al., 2008). Wahyuni et al. (2014) menyebutkan

bahwa tanin merupakan senyawa antinutrisi yang memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Tanin dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan polimer gallic atau ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon (Jayanegara dan Sofyan, 2013).



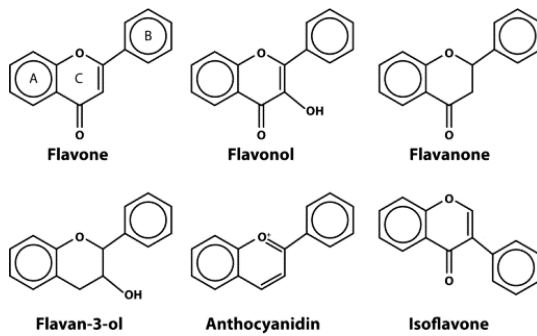
Gambar 10. Struktur Kimia Senyawa Tanin

Sumber: <http://www.chemhelper.com/acidbase2.html>

FLAVONOID

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat di alam. Lebih dari 4.000 flavonoid telah diketahui. Banyak flavonoid berasal dari produk sayuran, buah-buahan dan minuman seperti teh, kopi dan jus buah. Quercetin, kaempferol dan quercitrin adalah flavonoid umum yang ada di hampir 70% dari tanaman. Kelompok lain dari flavonoid termasuk flavon,

dihydroflavons, flavans, flavonol, *anthocyanidins*, *proanthocyanidins*, *calchones* dan *catechin* dan *leucoanthocyanidins* (Doughari, 2012). Kapasitas flavonoid untuk bertindak sebagai antioksidan tergantung pada struktur molekulnya. Posisi gugus hidroksil dan fitur lainnya dalam struktur kimia dari flavonoid penting untuk aktivitas antioksidan dan radikal bebas. Di lain sisi, beberapa flavonoid seperti luteolin dan katekin, antioksidan asal flavonoid dianggap lebih baik dari antioksidan dari kelompok vitamin seperti asam askorbat, α -tokoferol dan β -karoten (Saxena *et al.*, 2013).



Gambar 11. Struktur Kimia Flavon

Sumber: Kyselova (2011)

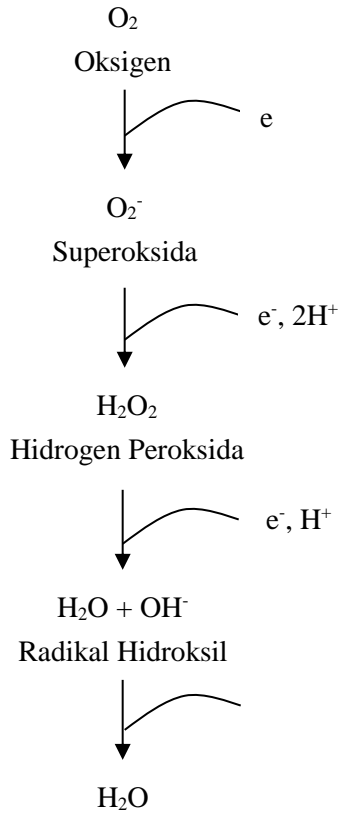
RADIKAL BEBAS DAN ANTIOKSIDAN

Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan di kulit terluarnya (Winarsi, 2007). Adanya radikal bebas di dalam tubuh manusia dapat menimbulkan berbagai penyakit

degeneratif yaitu kardiovaskuler, kanker, stroke, gagal ginjal, penuaan dini, dan penyakit kronik lainnya (Prasad *et al.*, 2009; Saha *et al.*, 2008).

Terdapat 4 jenis radikal bebas, yaitu *triplet oxygen*, *superoxide*, *hydrogen peroxide*, *hydroxyl radical* (Santoso, 2016). Oksigen triplet merupakan bentuk oksigen paling berlimpah dan normal diudara untuk pernapasan makhluk hidup dan memiliki sifat diradikal (Suryanto, 2008). Senyawa O_2 yang tereduksi satu elektronnya akan menghasilkan superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil. Superoksida adalah suatu radikal bebas, dan kadang-kadang ditulis O_2^{\cdot} . Superoksida hanya memiliki satu elektron yang tidak berpasangan dan oleh karena itu bersifat kurang radikal apabila dibandingkan dengan O_2 , yang memiliki 2 elektron tidak berpasangan. H_2O_2 adalah bentuk tereduksi dari O_2 yang telah menerima 2 elektron, oleh karena itu hidrogen peroksida bukan merupakan radikal oksigen. Namun, H_2O_2 di kelompokkan dalam spesies oksigen reaktif karena dapat dengan cepat diubah menjadi radikal hidroksil (Marks *et al.*, 2000).



Gambar 12. Langkah - Langkah Reduksi Satu Elektron pada Oksigen.

Sumber: Uliabab (2014)

Antioksidan

Antioksidan pangan didefinisikan sebagai senyawa kompleks yang terdapat pada makanan ataupun bahan pangan yang dapat melindungi jaringan dari kerusakan akibat oksidasi (Tjandra *et al.*, 2011). Antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya ke senyawa yang bersifat oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat (Winarsi,

2007). Tubuh manusia memproduksi sejumlah antioksidan yang penting untuk mencegah stres oksidatif. Radikal bebas yang dihasilkan dalam tubuh dapat dinetralkan dengan mekanisme pertahanan alami tubuh (antioksidan alami) seperti *glutathione* (GSH), superoksida dismutase (SOD) dan katalase. Namun kapasitas antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh tidak selalu mencukupi untuk mencegah stres oksidatif. Oleh karena itu, kekurangan ini harus dikompensasi dengan menggunakan antioksidan pangan alami, seperti asam askorbat, α -tokoferol, flavon, β -karoten, dan komponen polifenol pada tanaman (Doughari, 2012).

Terdapat beberapa cara yang dapat digunakan untuk mengetahui nilai antioksidan (kuantifikasi antioksidan), beberapa diantaranya adalah dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil), ABTS (*Azobis Amidino Propane di-Hydrochloride*), FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*), ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), TSP (*Total Soluble Phenol*), dan TAA (*Total Ascorbic Acid*).

Tabel 9. Perbandingan metode uji kapasitas antioksidan berdasarkan kemudahan analisis, penggunaan instrumen, relevansi biologis, mekanisme, *endpoint*, dan pembedaan terhadap aktivitas antioksidan hidrofilik/lipofilik

Metode Antioksidan	Uji	Kemudahan	Instrumen yang dibutuhkan	Relevansi biologis	Mekanisme	<i>Endpoint</i>	Kuantifikasi	Pembedaan lipofilik/hidrofilik
ORAC		++	+	+++	HAT	<i>Fixed time</i>	AUC	+++
TRAP		---	-- (terbatas)	+++	HAT	<i>Lag phase</i>	IC ₅₀ <i>lag time</i>	--
FRAP		+++	+++	--	SET	<i>Time, varies</i>	ΔOD	---
CUPRAC		+++	+++		SET	<i>Time</i>	ΔOD	---
TEAC		+	+	-	SET	<i>Time</i>	ΔOD	+++
DPPH		+	+	-	SET	IC ₅₀	ΔOD	-
TOSC		-	-	++	HAT	IC ₅₀	AUC	---
Oksidasi LDL		-	+++	+++	HAT	<i>Lag phase</i>	<i>Lag time</i>	---
Photochem		+	-- (terbatas)	++	?	<i>Fixed time</i>	<i>Lag time</i> atau AUC	+++

+, ++, +++ = sesuai dengan karakteristik uji, -, --, --- = tidak sesuai dengan karakteristik uji, uji antioksidan lipofilik berdasarkan perhitungan area di bawah kurva (AUC) dan hidrofilik berdasarkan perhitungan *lag time*. HAT = transfer atom hydrogen, SET = transfer electron tunggal. Sumber: Prior et al, 2005.

CEMPEDAK DAN MANDAI CEMPEDAK SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN

**Yuliana Sabarina Lewar, Sitohang Satrio, Frio Handayani,
Sukmiyati Agustin, Sulistyo Prabowo, Anton Rahmadi**

Artikel ini merupakan bagian dari Skripsi atas nama Yuliana Sabarina Lewar, lulus tahun 2015 dan Sitohang Satrio, lulus tahun 2017, yang dibiayai melalui Hibah Penelitian Fundamental a.n. Anton Rahmadi. Sebagian lainnya merupakan dari Tinjauan Pustaka Skripsi atas nama Frio Handayani, lulus tahun 2018, yang dibiayai melalui Hibah Penelitian PPT-PSNI a.n. Anton Rahmadi.

ARTOCARPUS

Moraceae adalah kelompok keluarga tumbuhan terbesar yang terdiri dari 60 genus tumbuhan dan terdapat hampir 1.400 jenis spesies, termasuk golongan *Artocarpus*, *Morus* dan *Ficus* (Hari *et al.*, 2014). *Artocarpus* berasal dari bahasa Yunani, yaitu *artos* (roti) dan *karpos* (buah), artinya buah yang dimakan (Orwa *et al.*, 2009). Spesies *Artocarpus* yang umum dimakan adalah sukun (*Artocarpus altilis*), kluwih (*Artocarpus camansi*), nangka (*Artocarpus heterophyllus*), cempedak (*Artocarpus integer*) dan terap (*Artocarpus odratissimus*) (Lim, 2012).

Artocarpus merupakan tumbuhan tropis yang berpotensi sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari genus *Artocarpus* terdiri dari terpenoid, flavonoid, stilbenoid, arilbenzofuran, neolignan dan *adduct Diels-Alder* (Hakim, 2010). Pada buah, batang, daun dan kulit kayu *Artocarpus* mengandung banyak senyawa biologis aktif

menguntungkan dan dapat dimanfaatkan untuk berbagai aktivitas biologis seperti antibakteri, antitubercular, antivirus, antijamur, antiplatelet, antiartritik, penghambatan tirosinase dan sitotoksitas terhadap organisme tertentu (Jagtap dan Bapat, 2010). *Artocarpus* merupakan genus tumbuhan yang bermanfaat sebagai penghasil sumber pangan fungsional, sumber obat-obatan tradisional dan sumber kayu. *Artocarpus* juga memiliki berbagai manfaat dan kegunaan bagi kehidupan manusia, seperti batang dijadikan sebagai bahan bangunan, buah sebagai sumber bahan makanan serta kulit batang dan daun dimanfaatkan sebagai obat-obatan tradisional.

Beberapa penelitian dari genus *Artocarpus* telah diteliti dan dikembangkan dari cempedak, sukun, kluwih dan nangka (Hakim *et al.*, 2010; Mozef *et al.*, 2015; Ourlad dan Sonia, 2015; dan Jayus *et al.*, 2016) sebagai pangan berkhasiat fungsional dan obat-obatan (kesehatan).

Artocarpus biasa digunakan sebagai sumber pangan dan praktek pengobatan tradisional (Hari *et al.*, 2014). Spesies *Artocarpus* yang umum dimakan adalah sukun (*A. altilis*) atau (*A. communis*), kluwih (*A. camansi*), nangka (*A. heterophyllus*), cempedak (*A. integer*) dan terap (*A. odratissimus*) (Lim, 2012). Menurut Sikarwar *et al.*, (2014), pada dasarnya *Artocarpus* terdiri dari senyawa fenolik yang meliputi flavonoid, jacin, lektin dan stilbenoids. Daun, batang, buah dan kulit kayu *Artocarpus* mengandung banyak senyawa biologis aktif yang menguntungkan dan dapat digunakan dalam berbagai kegiatan biologis termasuk antibakteri,

antitubercular, antivirus, antijamur, antiplatelet, antiartritik, penghambatan tirosinase dan sitotoksitas.

Ekstrak sukun adalah agen antioksidan potensial dengan aktivitas radikal yang kuat dan penghambatan peroksidasi lipid (Akanni *et al.*, 2014). Ekstrak kulit batang *A. communis* memiliki aktivitas antihipotema (Tzeng *et al.*, 2014). Batang sukun memiliki potensi efek penghambatan α -reduktase dan aktivitas superoksida penangkapan anion (Ramalingum dan Mahomoodally 2014). Antibakteri dan antijamur diperoleh dari ekstrak getah buah *A. communis* (Madhavi *et al.*, 2013). Penghambatan ACE (*Angiotensin Converting Enzyme*) dapat diamati pada ekstraksi daun (Mesa, 2014) yang juga memiliki aktivitas antityrosinase (Ko *et al.*, 2013). Nangka (*A. heterophyllus*) kaya akan senyawa fenolik seperti flavonoid, stilbenoids dan arylbenzofurons (Devalaraja *et al.*, 2011). Menurut Kumar *et al.*, (2010) pada ekstrak perikarp buah *A. lakoocha* terdapat aktivitas antibakteri, antioksidan, anthelmintik dan insektisida. Hashim *et al.*, (2012) mengungkapkan bahwa isolasi pyranocycloartobiloxanthone pada ekstrak *A. obtusus* menunjukkan aktivitas antiproliferatif. Ekstrak metanol buah *A. hirsutus* menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dibandingkan dengan referensi standar BHA (Butil Hidroksi Anisol) dan asam askorbat (Vinay *et al.*, 2013). Ekstrak daun, kulit batang, ranting dan akar *A. nigrifolius* memiliki antioksidan dan antibiotik (Hoi *et al.*, 2012).

ARTOCARPUS INTEGR

Nama ilmiah cempedak adalah *Artocarpus integer* (Thunb.) Merr. yang memiliki sinonim dengan *Artocarpus champeden* (Lour.) Stokes, *Artocarpus hirsutissima* Kurz, *Artocarpus integer* var. *silvestris* Corner, *Artocarpus integrifolia* L.f., *Artocarpus integrifolia* var. *hirsuta* Stokes, *Artocarpus jaca* Lam., *Artocarpus macrocarpon* (Thunb.) Dancer, *Artocarpus polyphema* Pers., *Polyphema champeden* Lour., *Radermachia integra* Thunb., *Saccus minor arboreus* Rumph., dan *Sitodium macrocarpon* Thunb. (Lim, 2012). Nama umum *A. integer* di beberapa negara adalah cempedak (Indonesia), cempedak, campeda, bankong, baroh (Malaysia), sonekadat (Myanmar), champada (Thailand) dan tibadak (Brunei) (Lempang dan Suhartati, 2013).

Buah cempedak berbentuk silinder sampai bulat, daging buahnya mudah dilepaskan dari kulit buahnya dan tangkai buahnya meskipun masih dikelilingi oleh dami buah. Daging buah cempedak berasal dari bagian bunga yang membesar dan menebal, berwarna putih kekuningan sampai jingga, rasanya manis dan aromanya harum, bertekstur lembut, licin berlendir dan agak berserat. Buah cempedak menyerupai nangka, namun ukurannya lebih kecil, kulit lebih halus dan aromanya tajam antara aroma nangka dan durian, getahnya lebih sedikit dibandingkan dengan buah nangka. Buah muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna kekuningan atau kecokelat-cokelatan sampai hijau kejinggaan. Buah tertutup oleh duri-

duri tumpul yang tersusun rapat, gagang buahnya berukuran 5 - 6 cm, tebal kulit buah ± 1 cm, berat buah 0,6 s.d. 3,5 kg, berat daging buah dan biji 25 s.d. 30% dari berat buah (Lempang dan Suhartati, 2013).

Tabel 10. Komposisi Massa (%) dari *A. integer*

Tipe	Daging Buah	Biji	Kulit	Inti
Matang	26,5	31,4	36,8	5,4
Mentah	24,4	16,9	52,4	6,4

Sumber : Lim *et al.*, (2011)

Buah cempedak mengandung serat pangan (*dietary fiber*) yang cukup tinggi, yaitu sebesar 2,31% lebih tinggi dari serat durian (1,2%) dan stroberi (0,9%). Buah ini asli dari Sumatera, Pulau Borneo, Sulawesi, Maluku dan bagian barat Papua New Guinea (Bakar *et al.*, 2015).

Tabel 91. Komposisi Proksimat Buah Cempedak* (Nutrisi per 100 gram)

Komposisi	Kuantitas
Kadar Air (%)	67
Kadar abu (g)	1,2
Karbohidrat (g)	25,8
Protein (g)	2,5
Serat (g)	3,4
Lemak (g)	0,4
Energi (kkal)	490
K (mg/100g)	246
Na (mg/100g)	25
Ca (mg/100g)	40
Fe (mg/100g)	1,1

*Data dianalisa terhadap berat basah Sumber: Tang *et al* (2013)

Dari spesies ini telah berhasil diisolasi bebrapa senyawa fenolik golongan flavonoid dengan kerangka dasar flavanon, flavon, dan 3-

prenilflavon. Ekstrak metanol kulit batang cempedak secara *in-vitro* menunjukkan daya hambat yang tergolong kuat (sangat aktif) sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum* sensitif klorokuin, dan aktif (moderat) terhadap *P. falciparum* resisten klorokuin (Taek, 2011). Isolat yang berasal dari ekstrak diklorometana kulit batang *A. champeden*. memiliki potensi sebagai antimalaria dengan nilai $IC_{50} 0,024 \pm 0,011 \mu\text{g/ml}$ (Nuri, 2007).

Ling *et al* (2010) *mengungkapkan* bahwa total kandungan fenolik (mg/g asam galat ekuivalen) yang terdapat dalam daun *Artocarpus champeden* adalah $279 \pm 76 \text{ mg/g GAE}$ dalam ekstrak aquades dan $410 \pm 128 \text{ mg/g GAE}$ dalam ekstrak etanol. Aktivitas penangkapan radikal bebas daun cempedak dalam ekstrak etanol IC_{50} , melalui uji DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), *galvinoxyl*, dan ABTS (2,2 azino bis(3-ethylbenzthiazoline-6 sulfonic acid)) berturut-turut adalah $3,34 \pm 0,21$; $11,54 \pm 0,1$; dan $12,39 \pm 0,04 \text{ mg/mL}$ dan dalam ekstrak aquades adalah $4,54 \pm 0,01$; $14,33 \pm 0,04$; dan $9,52 \pm 0,03 \text{ mg/mL}$. Inhibisi terhadap peroksidasi lipid $3,73 \pm 0,05 \text{ mg/mL}$ dalam ekstrak aquades dan $2,08 \pm 0,24 \text{ mg/mL}$ dalam ekstrak etanol.

Berdasarkan hasil penelitian Sirisha *et al* (2014), dalam 100 mg/mL konsentrasi ekstrak biji *A. integer* diperoleh total fenol sebesar $1,3 \pm 0,02 \mu\text{g}$ ekuivalen asam galat/g ekstrak, flavonoid sebesar $2,26 \pm 0,02 \mu\text{g}$ ekuivalen kuersetin/g ekstrak, total tanin sebesar $1,19 \pm 0,02 \mu\text{g}$ ekuivalen asam tanat/g ekstrak, dan alkaloid sebesar $0,34 \pm 0,3 \mu\text{g}$ ekuivalen boldin/g

ekstrak. Aktivitas antioksidan pada biji *A. integer* dengan IC_{50} terhadap superoksida dismutase (SOD) (U) adalah $12,3 \pm 0,02$ U/mg protein katalase (CAT) adalah $4,76 \pm 0,2$ H_2O_2 /menit/mg protein; peroksidase adalah $44,7 \pm 0,15$ U/mg protein/menit; GPx (*glutation perokside*) adalah 28.6 ± 0.15 μ moles/mg protein dan oksidasi askorbat sebesar $0,4 \pm 0,2$ U/mg protein.

Tewtrakul *et al* (2008) menyatakan bahwa kulit cempedak memiliki aktivitas anti alergi (IC_{50}) dalam ekstraksi dengan aquades sebesar $37,0 \pm 1,7$ μ g/ml dan sebanyak $14,6 \pm 3,1$ μ g/ml pada daging buah cempedak. Antimalaria terdapat pada ekstrak kulit batang cempedak (Widyawaruyanti *et al.*, 2011). Tewtrakul *et al* (2008) mengungkapkan bahwa komponen stillbene yang terkandung pada kulit dan buah cempedak bertanggungjawab terhadap aktivitas anti elergi dan anti mikroba pada tanaman ini. Aktivitas anti alergi kulit cempedak (% penghambatan 100μ g/mL) dengan pelarut etanol 50% adalah 100,76 % dan dengan pelarut air sebesar 81,75 %, sedangkan pada buah cempedak aktivitas alergi dalam pelarut etanol 50% dan air adalah 67,02% dan 80,40%. Berikut merupakan perbandingan fitokimia dan aktivitas antioksidan pada bagian kulit, biji dan daging buah cempedak segar yang disajikan pada Tabel 11.

MANDAI

Mandai adalah makanan hasil fermentasi kulit bagian dalam cempedak. Ada tiga tahap prinsip pengolahan *mandai*. Pertama, persiapan bahan utama yaitu pengupasan dan pencucian bagian dalam kulit cempedak). Kedua, penggaraman (b/v). Ketiga, perendaman kulit cempedak selama waktu fermentasi yang diinginkan (Nur, 2009). Fermentasi *mandai* umumnya dibuat dengan penambahan garam dalam jumlah rendah, tinggi dan dengan penambahan kultur pemula (*starter*) pada proses fermentasinya.



Gambar 13. Mandai

Fermentasi *mandai* bertujuan untuk mengawetkan dan memperpanjang umur simpan produk, memanfaatkan limbah dari buah cempedak, dan mendukung program diversifikasi pangan. *Mandai* umumnya dijadikan sebagai lauk dan sayuran bagi masyarakat. Nuraida (2015) menyatakan bahwa pangan fermentasi tradisional dari Indonesia yaitu *mandai* menghasilkan bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus*

plantarum dan *Pediococcus pentosaceus*. Menurut (Emmawati *et al.*, 2015) *mandai* yang diolah dengan baik dan benar dapat bertahan hingga satu tahun atau lebih.

Mandai dengan Garam

Fermentasi *mandai* pada umumnya ditambahkan garam pada proses fermentasinya. Penambahan garam bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen, mengawetkan bahan serta memperpanjang masa simpan produk. Kadar atau jumlah garam yang ditambahkan tergantung dari banyaknya *mandai* dan waktu fermentasi yang diinginkan. Pemberian jumlah garam menentukan mutu akhir produk yang dihasilkan seperti hasil fermentasi, pembentukan aroma, tekstur, rasa dan nilai pH produk (Nur, 2009).

Mandai Rendah Garam

Fermentasi *mandai* rendah garam adalah fermentasi *mandai* dengan penambahan garam dalam jumlah rendah pada proses fermentasinya. Nur (2009) mengemukakan bahwa fermentasi 100 g *mandai* dengan penambahan garam jumlah rendah sebanyak 10% pada fermentasi hari ke-3, 5, 7 dan hari ke-14 menunjukkan peningkatan pertumbuhan mikroba. Nur (2009) berpendapat bahwa penggunaan garam jumlah tinggi dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk, namun

berdampak negatif terhadap kesehatan manusia jika mengkonsumsinya secara berlebihan.

Pertumbuhan khamir tumbuh baik pada fermentasi *mandai* suhu ruang hari ke-5 ($2,8 \times 10^9$ cfu/g) dan pertumbuhan sel bakteri pada hari ke-14 ($1,1 \times 10^7$ cfu/g) waktu fermentasi, kadar garam substrat mengalami peningkatan di minggu ke-3 yaitu 4,941% dan nilai pH substrat berada pada kisaran 3,71-6,02. Pertumbuhan mikroba tersebut dipengaruhi oleh aktivitas maupun laju pertumbuhan dari beberapa mikroba yang hidup dan yang berperan dalam fermentasi produk *mandai*. Pengamatan terhadap perubahan yang terjadi selama waktu fermentasi terkait penelitian Nur (2009) meliputi pertumbuhan jumlah mikroorganisme dan bakteri asam laktat, gula tereduksi, produksi asam organik dan perubahan pH selama fermentasi.

Penelitian Emmawati *et al* (2015) pada fermentasi *mandai* hari ke-4, 8 dan hari ke-12 selama fermentasi dengan penambahan garam rendah 5%, 10% dan 15% menunjukkan pertumbuhan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dari *mandai* yang berpotensi sebagai probiotik. Hasil identifikasi dari kesepuluh isolat *mandai* terbukti ditemukan adanya bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus plantarum* dengan *Analytical Profile Index* (API) 50 CHL.

Mandai Tanpa Garam

Mandai cempedak dibuat dari kulit cempedak (atau nangka) dengan memanfaatkan garam sebagai sarana selektif pertumbuhan BAL. *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc sp.* merupakan bakteri yang umum yang dapat diisolasi dari produk ini. Metode fermentasi yang digunakan merupakan fermentasi mandai tanpa penambahan garam. Fermentasi dilakukan dengan penambahan starter berupa Bakteri Asam Laktat dari spesies *Lactobacillus casei*.

Kelemahan dari proses fermentasi tradisional adalah: (1) penggunaan garam dalam konsentrasi yang tinggi (15-25% b/v) menyebabkan kenaikan asupan garam (NaCl) tubuh, yang memiliki implikasi pada kesehatan, (2) penggunaan garam juga memberikan cita rasa pahit pada produk mandai yang dihasilkan sebagai akibat akumulasi mineral di dalam produk, (3) proses-proses yang terdapat saat ini tidak dapat dipastikan keamanan produk dan keberhasilan proses fermentasinya, oleh sebab proses yang kurang higienis dan diversitas kultur yang mungkin tumbuh dan berkembang di produk mandai cempedak tersebut.

Invensi ini dibangun berdasarkan beberapa dasar teori fermentasi yang telah diketahui efektivitasnya untuk menghasilkan produk yang berkualitas tinggi, yaitu: (1) proses penyiapan kulit buah cempedak dengan pemanasan pada suhu 100 °C selama 5 menit dapat mematikan bakteri-bakteri indigenous; (2) Adapun bakteri-bakteri indigenous yang dapat

bertahan dalam pemanasan pada suhu 100 °C selama 5 menit di kulit buah cempedak adalah banteri-bakteri tahan panas, termasuk di dalamnya strain bakteri asam laktat yang akan tumbuh dominan di proses fermentasi; (3) Kondisi kulit mandai cempedak dengan pH awal 5,5, kandungan gula dan karbohidrat dalam jumlah cukup merupakan kondisi yang menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri asam laktat; (4) Penambahan kultur starter pada fermentasi lambat menyebabkan percepatan proses fermentasi, sehingga tidak lagi melewati fasa inisiasi; (5) Faktor-faktor intrinsik yang mempengaruhi keberhasilan dari fermentasi BAL dengan starter adalah: pH dan nutrisi, sementara faktor eksternal yang mempengaruhi adalah penambahan kultur pemula, perlakuan pendahuluan (proses panas), dan proses higienis selama proses pengolahan (Aplikasi HKI no S00201708790 a.n. Anton Rahmadi).

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BUBUK MANDAI CEMPEDAK

Mandai merupakan salah satu produk yang dibuat dari kulit cempedak dan senyawa fungsional yang cukup tinggi dari mandai tersebut dapat menjadi dasar untuk mengolah produk turunan lainnya dari mandai yang memiliki khasiat fungsional. Lewar (2016) melakukan penelitian terhadap salah satu produk turunan dari mandai, yaitu bubuk mandai yang difermentasi dan dikeringkan dengan perlakuan suhu pengeringan untuk diketahui perbandingan aktivitas antioksidan dan nilai fitokimianya yang

menunjukkan bahwa suhu pengeringan terbaik adalah suhu pengeringan rendah (45°C). Nilai Fitokimia dan antioksidan bubuk mandai disajikan pada tabel 12.

Tabel 102 Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada A. Integer

Bagian Buah Cempedak	Total Fenol (mg GAE/g)	Total Flavonoid (mg CE/g)	Total Karotenoid (mg β C/g)	Aktivitas Antioksidan	
				Uji FRAP (μ M/g)	Uji ABTS (mg/g)
Kulit	21,29 \pm 0,43	17,45 \pm 0,46	1,17 \pm 0,05	218,91 \pm 11,36	11,93 \pm 0,09
Biji	11,87 \pm 0,30	3,58 \pm 0,11	0,72 \pm 0,01	76,58 \pm 6,63	7,71 \pm 0,34
Daging Buah	4,40 \pm 0,20	0,82 \pm 0,06	1,09 \pm 0,03	13,59 \pm 0,64	3,97 \pm 0,08

Keterangan:

- Total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat dalam 1 g sampel kering (mgGAE/g)
- Total flavonoid dinyatakan sebagai mg ekuivalen katekin dalam 1 g sampel kering (mg CE/g)
- Total karotenoid dinyatakan sebagai mg ekuivalen β -karoten dalam 1 g sampel kering (mg β C/g)
- FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma/Ferric Reducing Antioxidant Power*) dinyatakan sebagai μ M reduksi dari feri ke fero dalam 1 g sampel kering.
- ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)*) dinyatakan sebagai mg kapasitas antioksidan asam askorbat ekuivalen dalam 1 g sampel kering.

Sumber: Bakar et al, 2015.

Tabel 113 Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada Bubuk Mandai dengan Perlakuan Suhu Pengeringan

Parameter	Perlakuan			
	45 °C	50 °C	55 °C	Kontrol
Total Fenol (mg GAE/Kg)	345,37±52,04	230,67±11,57	195,99±12,57	267,06±13,27
Total Tanin (mg TAE/Kg)	143,00±9,21	96,16±8,60	67,16±6,54	114,75±8,15
Total Flavonoid (mg CE/Kg)	12,71±0,52	7,50±0,74	6,06±0,42	8,30±0,51
Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀ ppm)	56,96±6,74	66,76±5,99	84,74±7,67	136,78±8,99

Sumber : Lewar (2016)

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menandakan tidak berbeda nyata pada α 5%.

PROFIL PERUBAHAN POPULASI BAL, DAN PH PADA FERMENTASI SUHU OPTIMUM MANDAI CEMPEDAK HIGIENIS TANPA GARAM

**Anton Rahmadi, Kartika Sari, Satrio Sitohang, Nikmatul Khoiriyah,
Frio Handayani, Aswita Emmawati, Yuliani**

Artikel ini telah dipresentasikan di Seminar Nasional PATPI Lampung tahun 2017, dipublikasikan di Prosiding Seminar Nasional PATPI Lampung tahun 2017 Buku 2 Hal. 811-817.

PENDAHULUAN

Mandai cempedak merupakan pangan lokal masyarakat Kalimantan Timur dan Selatan yang cukup populer. Produk fermentasi tradisional ini hampir setiap saat dapat ditemui. Fermentasi tradisional mandai cempedak telah didokumentasi dalam berbagai penelitian (Rahmadi et al, 2013; Nur, 2009; Emmawati, 2015). BAL dari kelompok *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc sp.* merupakan bakteri yang dominan dalam fermentasi tradisional asam laktat mandai cempedak (Nur, 2009). Dalam pengamatan yang dilakukan, pedagang memproses kulit buah mandai dengan kurang higienis dan berimplikasi pada penambahan garam yang berlebihan untuk mencegah kebusukan. Peningkatan kualitas fermentasi tradisional sekaligus mengurangi konsumsi garam dapat dilakukan dengan cara sederhana yaitu perebusan (Afriani, 2010). Dalam pengolahan kulit buah cempedak, hal ini dimungkinkan karena secara teoretis BAL diketahui

dapat bertahan pada suhu pemanasan tertentu (Fiocco et al, 2007). BAL tahan panas diketahui memiliki protein-protein yang bersifat protektif terhadap perlakuan panas (De Angelis, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk melihat perubahan populasi bakteri asam laktat (BAL), pH, kadar flavonoid, dan potensi aktivitas antioksidan dari fermentasi mandai cempedak tanpa garam yang diproses secara higienis selama periode fermentasi tujuh hari pada suhu 37 °C. Perbaikan kualitas produk pangan lokal hasil fermentasi dapat dilakukan melalui pengenalan cara kerja yang higienis namun tetap sederhana, sehingga dapat diimplementasikan di tingkat pedagang kaki lima.

PENGOLAHAN MANDAI CEMPEDAK TANPA GARAM

Kulit buah cempedak yang digunakan merupakan kulit bagian dalam yang telah disortasi dan dibersihkan. Kulit cempedak kemudian dipotong dengan ukuran 3-4 cm³. Setelah itu, potongan kulit cempedak direbus pada suhu 80-90 °C selama 15 menit untuk menghilangkan getah pada kulit cempedak, kemudian ditiriskan. Kulit cempedak disimpan dalam wadah botol tertutup sebanyak kurang lebih 100 gram. Air dituang ke dalam wadah hingga seluruh kulit cempedak terendam. Kulit cempedak direbus kembali pada suhu 80-90 °C selama 15 menit. Mandai selanjutnya difermentasi pada suhu 37°C selama 7 hari pada suhu 37 °C. Pengamatan

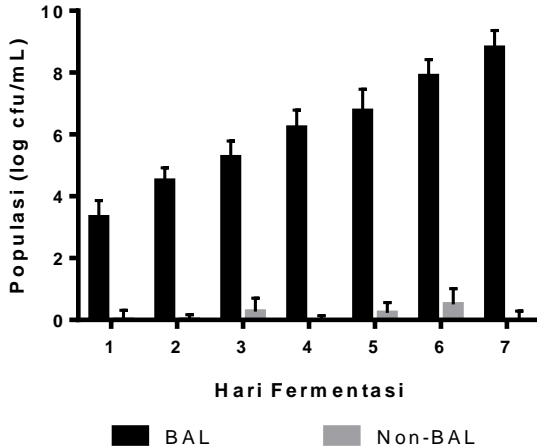
terhadap total bakteri, total BAL, pH, kadar flavonoid, dan potensi aktivitas antioksidan dilakukan setiap hari hingga hari ke-7.

PERTUMBUHAN BAKTERI DALAM FERMENTASI MANDAI

Pertumbuhan BAL dan non-BAL diamati sejak hari pertama hingga hari ke tujuh pada suhu 37 °C. Proses fermentasi mandai cempedak higienis tanpa garam dapat dilihat pada Gambar 1. Hingga pada hari ke-7, BAL terus tumbuh dan berkembang mengikuti persamaan linier [populasi BAL dalam log cfu/mL] = 0,9128 x [hari fermentasi] + 2,081. BAL mendominasi secara signifikan pertumbuhan total bakteri di dalam proses fermentasi mandai ini. Populasi bakteri non-BAL paling tinggi terdapat di hari ke-6 yaitu 0,31 log CFU/mL. Konfirmasi pertumbuhan BAL dilakukan dengan medium MRSA dan uji biokimia parsial yang meliputi konfirmasi Gram positif, identifikasi bentuk sel batang, ketidakberadaan spora, non-motilitas, dan katalase positif. Menurut beberapa penelitian sebelumnya, *Lb. plantarum* adalah BAL yang paling umum diisolasi dari proses fermentasi pangan lokal asal sayuran atau buah-buahan (Emmawati et al, 2015; Rahmadi et al, 2013, Nur, 2009).

Data ini membuktikan bahwa BAL mampu bertahan hidup dalam proses panas yang digunakan pada proses pengolahan awal mandai cempedak. Hasil ini sejalan dengan penelitian De Angelis *et al* (2004) dan Fiocco *et al* (2007) yang menyatakan bahwa beberapa strain BAL mampu

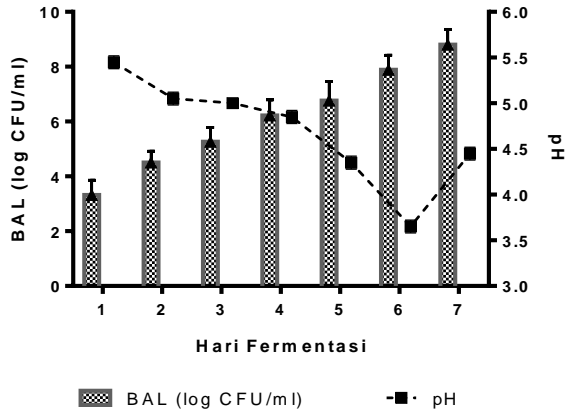
bertahan hidup setelah mengalami proses panas karena menghasilkan protein yang bersifat protektif panas.



Gambar 14 Populasi BAL dan Non-BAL pada Fermentasi Mandai Cempedak Higienis tanpa Garam pada Suhu 37 °C

BAL diketahui memproduksi asam laktat dalam jumlah yang cukup untuk menurunkan derajat keasaman dari produk hasil fermentasi. Penurunan pH dari mandai cempedak dimulai sejak fermentasi hari kedua hingga hari ke tujuh, dengan pH terendah diperoleh pada fermentasi hari keenam, yaitu pH 3.5 (Gambar 2). Dalam fermentasi spontan mandai cempedak, *Lb plantarum* mendominasi pertumbuhan mikroba, sementara spesies BAL tersebut diketahui sebagai bakteri heterofermentatif fakultatif (Zago *et al*, 2011). Rhee *et al* (2011) melaporkan penurunan pH sebagai akibat dari produksi asam laktat adalah indikator kesuksesan fermentasi produk pangan tradisional oleh BAL. Dalam penelitian ini, pertumbuhan BAL selaras dengan penurunan pH sampai dengan hari keenam. Ini

mengindikasikan, bahwa dalam fermentasi mandai cempedak pada suhu 37 °C, waktu optimum fermentasi adalah enam hari.



Gambar 15 Perubahan pH dan populasi BAL pada fermentasi mandai cempedak higienis tanpa garam pada suhu 37 °C

FITOKIMIA DAN MODULASI ANTIOKSIDAN DARI FERMENTASI SPONTAN DAN INDUKSI *LB. CASEI* PADA FERMENTASI SUHU OPTIMUM MANDAI CEMPEDAK

Kartika Sari, Yuliani, Anton Rahmadi

Artikel ini merupakan bagian dari Skripsi a.n. Kartika Sari yang didanai melalui Hibah PUPT a.n. Anton Rahmadi dan telah dipresentasikan di Seminar Internasional Health Ingredient – South East Asia, 2018. Sebagian data dipublikasikan di Jurnal Teknologi dan Industri Pangan (in review 2018).

PENDAHULUAN

Seiring dengan meningkatnya usia seseorang, pembentukan radikal bebas juga akan semakin meningkat karena sel-sel tubuh mengalami degenerasi. Proses degenerasi sel-sel tubuh akan mengakibatkan terganggunya proses metabolisme, dan mengakibatkan respon imun menurun. Semua faktor ini dapat memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif. Tubuh yang gagal memerangi radikal bebas secara efektif, dapat menyebabkan kematian karena radikal bebas menyerang protein, karbohidrat, lemak, dan DNA. Radikal bebas tidak dapat dihindari, oleh sebab itu tubuh kita memerlukan suatu substansi penting, yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan meredam dampak negatifnya (Youngson, 2005; Winarsi, 2007).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki kekayaan sumber daya alam hayati yang beranekaragam yang dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Setiap daerah yang ada di Indonesia memiliki ciri khas tersendiri dalam mengolah sumber daya alam. Salah satunya mengolah sumber daya alam hayati berupa tumbuh-tumbuhan menjadi produk pangan tradisional. Kalimantan Timur memiliki tumbuhan lokal yang berpotensi sebagai sumber antioksidan. Beberapa diantaranya diolah dengan cara fermentasi, seperti cempedak.

Cempedak adalah buah lokal dalam genus *Artocarpus*, yang kulit bagian dalamnya dimanfaatkan sebagai sumber tradisional untuk fermentasi bakteri asam laktat (LAB) dengan bantuan garam. Produk fermentasi ini disebut mandai cempedak yang memiliki kandungan fenolik tinggi, sehingga dapat menjadi sumber antioksidan yang baik. Cempedak terdiri atas kulit, daging buah dan biji. Bakar *et al.* (2015) melaporkan bahwa kulit cempedak mengandung total fenol, flavonoid, karotenoid dan aktivitas antioksidan yang jumlahnya lebih besar dibandingkan dengan daging buah dan biji cempedak.

Mandai adalah makanan fermentasi yang dibuat secara tradisional dari kulit buah cempedak. Mandai merupakan salah satu makanan khas yang berasal dari Kalimantan Timur dan Kalimantan Selatan yang biasa dijadikan sebagai lauk. Fermentasi mandai dapat dilakukan dengan penambahan garam dalam jumlah yang banyak, namun hal tersebut akan

membatasi penerimaan konsumen terhadap produk serta berpengaruh kurang baik bagi kesehatan konsumen (Nur, 2009). Penggunaan garam dengan konsentrasi yang rendah atau tanpa penambahan garam akan mengurangi resiko pada penggunaan garam berkadar tinggi.

Lama fermentasi mandai akan memberikan perubahan terhadap kandungan gizi serta kandungan lainnya pada produk. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai nilai analisis fitokimia pada fermentasi kulit cempedak menjadi mandai dengan penambahan starter dan perubahan nilai fitokimianya dengan variasi lama fermentasi, serta perbedaannya dengan fermentasi spontan tanpa penambahan garam dengan fermentasi cepat pada suhu 37°C.

FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MANDAI.

Total fenol, total tanin, dan total flavonoid pada setiap metode fermentasi menunjukkan kenaikan pada setiap hari fermentasi. Total fenol mandai dengan metode fermentasi spontan berkisar antara 1655±90 mg GAE kg⁻¹ pada hari pertama sampai dengan 3592 ±90 mg GAE kg⁻¹ pada hari ketujuh, sedangkan total fenol mandai dengan metode fermentasi menggunakan starter berkisar antara 1751±63 mg GAE kg⁻¹ pada hari pertama sampai dengan 4667±68 mg GAE kg⁻¹ pada hari ketujuh. Total tanin mandai yang difermentasi spontan tanpa penambahan garam dan yang di fermentasi menggunakan *Lb. casei* sebagai starter berkisar antara

32,51±3,34 mg TAE kg⁻¹ hingga 65,60±3,86 mg TAE kg⁻¹. Pada pengujian total flavonoid data yang diperoleh berkisar antara 6,886±0,296 mg CE kg⁻¹ hingga 21,20±0,30 mg CE kg⁻¹ pada fermentasi spontan tanpa penambahan garam dan 9,252±0,085 mg CE kg⁻¹ pada fermentasi menggunakan starter 26,53±0,30 mg CE kg⁻¹.

Berdasarkan tabel 13, dapat diketahui bahwa nilai IC₅₀ pada mandai fermentasi spontan dan starter pada hari pertama berturut-turut 212,6±3,5 ppm dan 210,6±2,5 ppm. Nilai IC₅₀ terendah terdapat pada fermentasi mandai hari ketujuh pada masing masing metode fermentasi dengan nilai 130,9±4,6 ppm pada fermentasi spontan dan 49,32±0,45 ppm pada fermentasi menggunakan starter. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol mandai.

Tabel 124 Rekapitulasi Rata-Rata Nilai Fitokimia Mandai selama Fermentasi

Hari Ke-	Total Fenol (mg GAE/kg)		Total Tanin (mg TAE/kg)		Total Flavonoid (mg CE/kg)		Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀ ppm)	
	Spontan	Starter	Spontan	Starter	Spontan	Starter	Spontan	Starter
1	1665±91a	1751±64a	32,51±3,34a	36,69±0,51a	6,886±0,30a	9,252±0,817a	212,6±3,5a	210,6±2,5a
2	1883±59a	2297±73ab	46,33±3,86b	48,51±2,82b	10,0±0,64b	11,77±0,76b	200,4±3,1b	179,4±2,5b
3	2213±27b	3615±286bc	51,42±1,29b	49,42±7,20b	13,50±0,17c	14,52±0,68c	189,5±3,7c	127,4±2,2c
4	2524±421bc	4013±304c	51,60±6,17b	56,69±1,03b	14,91±0,97c	16,38±0,51d	176,8±7,2d	122,0±3,4d
5	3034±54cd	4366±494d	51,60±7,20b	56,33±4,11b	17,46±0,59d	21,29±0,17e	157,5±1,9e	93,19±0,17e
6	3564±132cd	4404±41e	53,97±4,89b	52,15±2,31bc	20,66±0,64e	26,56±0,51f	137,0±5,3f	65,88±0,73f
7	3592±91d	4667±68e	63,05±2,31c	65,60±3,86c	21,20±0,30e	26,53±0,30f	130,9±4,6f	49,32±0,45g

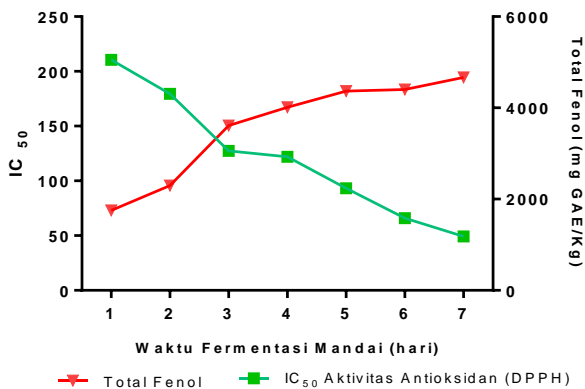
Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menandakan tidak berbeda nyata pada α 5%. Nilai yang tertera dinyatakan sebagai Rerata±Standar deviasi

Dajanata *et al* (2013) melaporkan bahwa kandungan total fenol menunjukkan kenaikan lebih tinggi hingga 217% dan 859% pada kedelai hitam dan kedelai kuning yang telah difermentasi dibandingkan dengan kacang kedelai hitam dan kedelai kuning yang tidak difermentasi dan total flavonoid kedelai hitam yang di fermentasi menghasilkan nilai total flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan total flavonoid yang tidak di fermentasi. Pada total tanin sesuai penelitian Nazarni *et al* (2016), bahwa ekstrak Jaruk Tegarun (bunga Tegarun yang difermentasi) memiliki total tanin yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak bunga Tegarun (*Crataeva nurvala*, Buch HAM).

Aktivitas antioksidan pada fermentasi mandai menunjukkan peningkatan, hal ini ditunjukkan dengan menurunnya nilai IC_{50} aktivitas antioksidan mandai. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (penghambatan radikal bebas) dalam ekstrak etanol mandai, hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Curiel *et al.* (2015) bahwa penghambatan radikal bebas dari ekstrak buah *Myrtus communis* yang difermentasi dengan *Lb. plantarum* lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak difermentasi. Adonan gandum hitam yang difermentasi dengan bakteri asam laktat (*Lac. lactis* ssp. *Lactis*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, dan *Lb. helveticus*) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan adonan gandum hitam yang difermentasi spontan (Banu *et al.*, 2010).

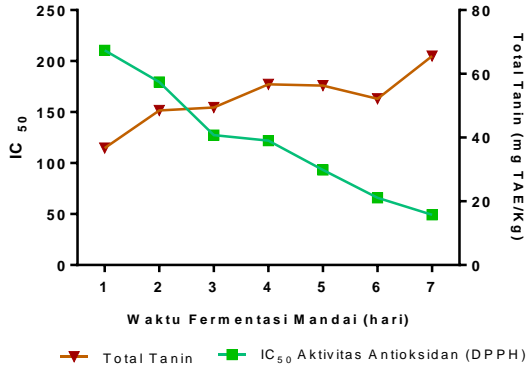
Korelasi Aktivitas Antioksidan Dengan Kandungan Senyawa Polifenol

Terdapat hubungan korelasi dimana semakin tinggi kadar total fenol, total tannin, dan flavonoid selama proses fermentasi mandai baik spontan maupun starter, semakin tinggi pula aktivitas antioksidan (IC_{50} semakin rendah). Berdasarkan gambar 1. gambar 2. dan gambar 3. dapat diketahui bahwa semakin tinggi kadar total fenol, tanin, dan flavonoid selama proses fermentasi mandai baik spontan maupun starter, semakin tinggi pula aktivitas antioksidan (IC_{50} semakin rendah), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi antar perlakuan pada setiap uji.



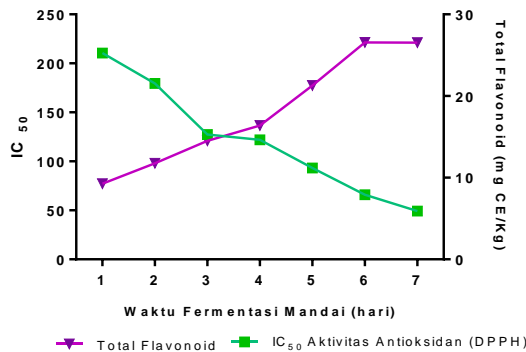
Gambar 16 Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC_{50} dan Total Fenol

Keterangan: Nilai yang digunakan pada grafik merupakan nilai IC_{50} terhadap DPPH dan total fenol dari metode fermentasi menggunakan *Lb.casei* sebagai starter.



Gambar 17. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC₅₀ dan Total Tanin

Keterangan: Nilai yang digunakan pada grafik merupakan nilai IC₅₀ dan Total tanin dari metode fermentasi menggunakan *Lb.casei* sebagai starter.



Gambar 18. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC₅₀ dan Total Flavonoid

Keterangan: Nilai yang digunakan pada grafik merupakan nilai IC₅₀ dan Total flavonoid dari metode fermentasi menggunakan *Lb.casei* sebagai starter

Hubungan antara kandungan fenolik total (mg GAE/g sampel) total terhadap aktivitas antioksidan (IC₅₀) berdasarkan beberapa penelitian

mempunyai korelasi yang sangat kuat. Hadriyono *et al* (2011) melaporkan kandungan fenolik total pada buah manggis memiliki korelasi yang sangat kuat terhadap aktivitas antioksidan dengan nilai korelasi sebesar 84%. Angkasa dan Suleman (2012) juga melaporkan nilai korelasi antara kandungan polifenol dan aktivitas antioksidan sebesar 99% pada tumbuhan daun hantap. Hal serupa juga disebutkan oleh Ukieyanna *et al* (2012) bahwa kandungan fenolik total memberikan kontribusi sebesar 77% terhadap aktivitas antioksidan pada tumbuhan suruhan. Kusumowati *et al* (2012) melaporkan hubungan antara antiradikal ekstrak daun sirih, daun jati belanda dan daun katuk dengan kadar fenolik total, dimana terdapat korelasi positif antar keduanya, semakin tinggi kadar fenolik mengakibatkan semakin besar aktivitas antiradikalnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Chayati dan Miladiyah (2015) dapat diketahui bahwa terdapat hubungan yang erat antara kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan metode DPPH pada madu monoflora dengan nilai korelasi sebesar 0,922. Penelitian lainnya juga mengkaji hubungan antara konsentrasi inhibisi (IC_{50}) dengan kandungan total fenolat dan total flavonoid pada ekstrak buah tanjung dengan nilai koefisien korelasi berturut-turut 0,9714 dan 0,9993 (Perwiratami *et al.*, 2014).

PENGARUH SUHU DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP POPULASI BAL, FITOKIMIA, DAN ANTIOKSIDAN MANDAI CEMPEDAK

**Nikmatul Khariyah, Frio Handayani, Kartika Sari, Satrio Sitohang,
dan Anton Rahmadi**

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas
Mulawarman

Artikel ini merupakan bagian dari Skripsi a.n. Kartika Sari, Satrio Sitohang, Frio Handayani, dan Nikmatul Khoiriyah yang didanai melalui Hibah PUPT a.n Anton Rahmadi dan sebagian data dipublikasikan di Jurnal Mikrobiologi Indonesia dalam Bahasa Inggris (*in rivew*, 2018)

PENDAHULUAN

Dalam peta jalan penelitian yang dibangun, telah diteliti beberapa olahan mandai, yaitu mandai rendah garam, prototipe bubuk mandai dan serta pemanfaatan isolat bakteri mandai. Kapasitas antimikroba isolat mandai pada produk VCO membuktikan bahwa isolat bakteri asam laktat dari mandai (*A. integer* atau sinonimnya *A. champeden*) meningkatkan daya antimikroba pada VCO hingga sekitar 20% dibandingkan VCO yang diproduksi tanpa menggunakan isolat BAL asal mandai. Terjadi penurunan yang signifikan terhadap kadar antioksidan (DPPH), total fenolik, dan flavonoid pada produk bubuk mandai dibandingkan dengan kulit cempedak segar. Permasalahan yang muncul adalah proses fermentasi kulit cempedak menjadi mandai dan pengeringan mandai menjadi bubuk

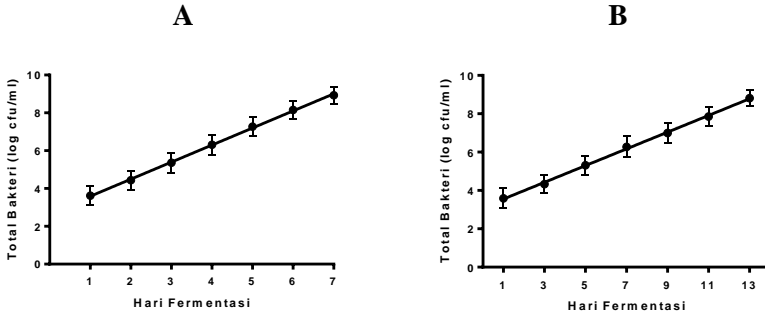
mandai menurunkan komponen fungsionalnya. Dalam menciptakan produk generasi kedua (G2) atau produk turunan pertama dari hasil fermentasi rendah garam dari mandai atau cempedak (G1), diperlukan perbaikan dalam proses fermentasi menjadi mandai seperti optimasi waktu dan suhu fermentasi mandai beserta penggunaan starter bakteri asam laktat yang digunakan. Penelitian yang diajukan ditujukan untuk memproduksi bubuk mandai dan “cuka” mandai tinggi komponen fitokimia yang merupakan hasil fermentasi rendah garam. Bubuk mandai ini dimaksudkan untuk digunakan sebagai bahan baku flavor lokal produk pangan lain seperti es krim, abon, kue-kuean, serta sebagai produk pangan unggulan daerah. Sementara “cuka” mandai digunakan sebagai bahan potensial penyedap rasa cair pengganti monosodium glutamat (MSG) dalam makanan-makanan lokal. Tahapan penelitian terdiri dari mengukur pengaruh suhu, waktu, dan penggunaan starter dilihat dari aktivitas antioksidan (DPPH), analisis fitokimia (total tanin, fenol, flavonoid) dan diversitas mikroba (total bakteri, total bakteri asam laktat).

KINETIKA PERTUMBUHAN BAL

Total Bakteri

Persamaan regresi linier untuk pertumbuhan total bakteri pada fermentasi *mandai* higienis tanpa garam dengan penambahan *Lb. casei*

pada suhu 37°C adalah $y = 0,8717 * X + 2,681$. Persamaan regresi linier pertumbuhan total mikroba pada suhu 8°C adalah $y = 0,4358 * X + 3,117$.



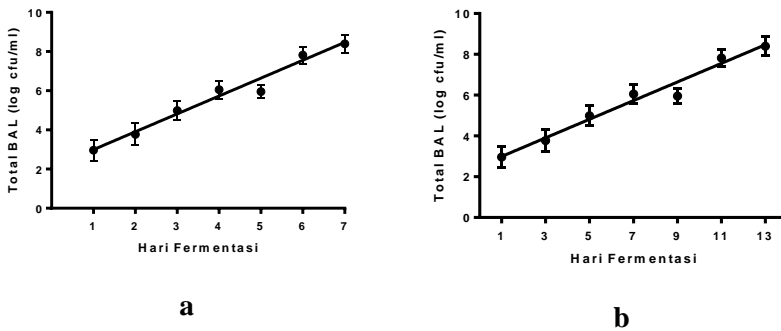
Gambar 19. Pertumbuhan Total Bakteri Mandai Higienis tanpa Garam dengan Penambahan *Lb. casei*

Keterangan: (a) Fermentasi suhu 37°C (b) Fermentasi suhu 8°C.

Seiring dengan berlangsungnya hari fermentasi total bakteri mengalami peningkatan. Namun pada suhu 37°C pertumbuhan total bakteri lebih cepat daripada pertumbuhan bakteri pada suhu 8°C. Menurut Irigoyen *et al* (2005) fermentasi pada suhu rendah akan menghambat pertumbuhan bakteri karena adanya asam laktat dan penghambatan aktivitas enzim laktase. Penyimpanan pada suhu dingin atau rendah tidak membunuh bakteri tetapi memperlambat pertumbuhan bakteri dan aktivitas metabolisme pada lingkungan masih tetap terjadi (Hidayat *et al.*, 2006).

Total Bakteri Asam Laktat

Persamaan regresi linier untuk pertumbuhan total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada fermentasi *mandai* higienis tanpa garam dengan penambahan *Lb. casei* pada suhu 37 °C adalah $y = 0,9128 * X + 2,081$. Persamaan regresi linier pertumbuhan total mikroba pada suhu 8 °C adalah $y = 0,4564 * X + 2,537$.



Gambar 20. Pertumbuhan Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Mandai Higienis Tanpa Garam dengan Penambahan *Lb. casei*

Keterangan: (a) Fermentasi suhu 37°C (b) Fermentasi suhu 8°C.

Bakteri Asam Laktat merupakan kelompok bakteri Gram positif yang tidak membentuk spora serta dapat memfermentasikan karbohidrat menjadi bakteri asam laktat (Salminen *et al.*, 2004). Karakteristik tertentu dari BAL yaitu tidak memiliki porfirin dan sitokrom, katalase negatif, tidak melakukan fosforilasi transpor elektron dan hanya mendapatkan energi dari fosforilasi substrat (Madigan dan Martinko, 2006). Beberapa faktor

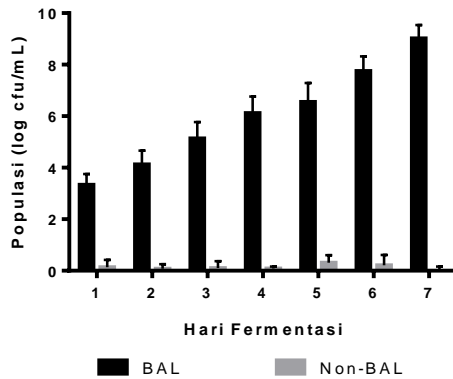
yang dapat mempengaruhi pertumbuhan asam laktat adalah kadar garam, suhu, pH dan ketersediaan karbohidrat sebagai sumber makanan (Pelczar dan Chan, 2005).

Berdasarkan grafik tersebut terlihat bahwa terjadi peningkatan total BAL pada fermentasi suhu 37°C dan suhu 8°C. Peningkatan jumlah BAL dipengaruhi adanya BAL *Lb. plantarum* yang mengubah gula menjadi asam laktat dan diikuti oleh lama fermentasi sehingga asam laktat yang dihasilkan BAL akan semakin tinggi (Armanto dan Nurasih, 2008). Identifikasi BAL spesies *Lb. plantarum* hampir dapat ditemukan di seluruh produk hasil fermentasi hewani maupun nabati (berasal dari tumbuh-tumbuhan, sayuran, dan buah-buahan). Bakteri ini berperan dalam mengendalikan proses fermentasi atau berasal dari lingkungan dan tumbuh awal pada saat proses fermentasi dimulai (Corsetti dan Gobetti, 2002).

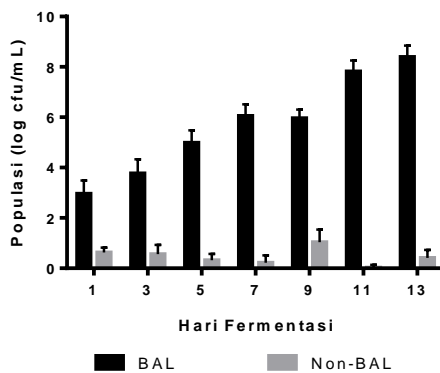
Populasi BAL dan Non BAL

Populasi BAL didapatkan melalui perhitungan jumlah koloni pada media NA dikurang dengan jumlah koloni yang terdapat pada media MRSA. Berdasarkan hasil perhitungan yang telah dilakukan didapatkan jika total BAL lebih tinggi bila dibandingkan total non BAL.

A



B



Gambar 21. Grafik Perbandingan Pertumbuhan Total Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Total Non BAL Mandai Higienis Tanpa Garam dengan Penambahan *Lb. casei*

Keterangan: (a) Suhu 37°C (b) Suhu 8°C.

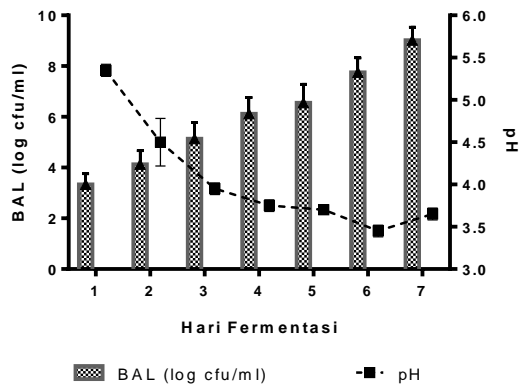
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yani *et al* (2013) total populasi BAL pada yoghurt brada pada kisaran $4,0 \times 10^7 - 2,9 \times 10^8$ CFU/ml. Total populasi tertinggi pada yoghurt dengan campuran jus mangga pada inkubasi hari ke-7 yaitu $2,9 \times 10^8$ CFU/ml dan terendah pada

yoghurt tanpa penambahan jus inkubasi hari ke-1 yaitu $4,0 \times 10^7$ CFU/ml. Hal ini dapat terjadi pada substrat yang dibutuhkan oleh mikroba di dalam media biakan hampir habis dan terjadi penumpukan produk penghambat, maka terjadi penurunan laju pertumbuhan BAL (Kiani *et al.*, 2008).

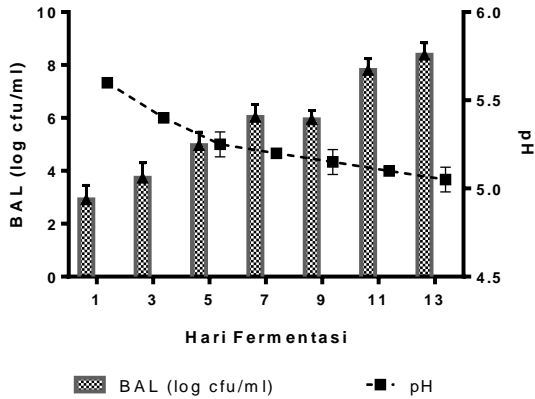
Total Bakteri Asam Laktat terhadap pH

Berdasarkan metode interpolasi diketahui bahwa semakin meningkat angka pertumbuhan BAL maka nilai pH akan semakin menurun. Penurunan nilai pH pada fermentasi suhu 37 °C lebih cepat dibandingkan pada fermentasi suhu 8 °C.

A



B



Gambar 22. Korelasi Pertumbuhan BAL pada Fermentasi Mandai dengan Penambahan *Lb. casei* terhadap pH

Keterangan: (a) Fermentasi suhu 37°C (b) Fermentasi suhu 8°C.

Nur (2009) mengidentifikasi bahwa mandai tergolong produk berjenis asam, dimana nilai pH berada pada rentang 3,71-6,02. Hal serupa disampaikan oleh Rahayu *et al* (1995) bahwa pH optimum pertumbuhan bakteri asam laktat berkisar 3,80-8,00. Fermentasi mandai dengan penambahan *Lb.casei* memiliki nilai pH lebih rendah. Ruzana (2011) menyebutkan bahwa BAL menghasilkan senyawa antibakteri dimana efek antimikroba BAL dapat memproduksi asam laktat yang mempengaruhi penurunan pH. Nilai pH merupakan salah satu parameter *mandai* dalam menentukan tingkat keasaman. pH atau nama lain dari *potential of Hydrogen* adalah parameter yang digunakan untuk menentukan suatu produk bersifat netral, asam maupun basa. pH yang rendah merupakan

lingkungan yang baik untuk pertumbuhan *lactobacilli* (bakteri asam laktat).

Bertoldi *et al* (2004) mengemukakan bahwa produksi asam laktat oleh BAL akan menurunkan pH produk. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Taufik (2004) bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka nilai pH akan semakin menurun.

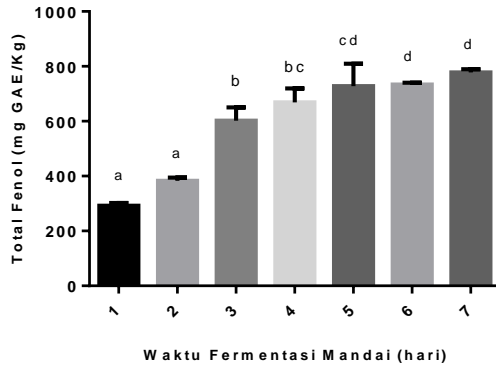
PENINGKATAN KADAR FENOLIK, FLAVONOID, TANIN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Kadar Fenolik

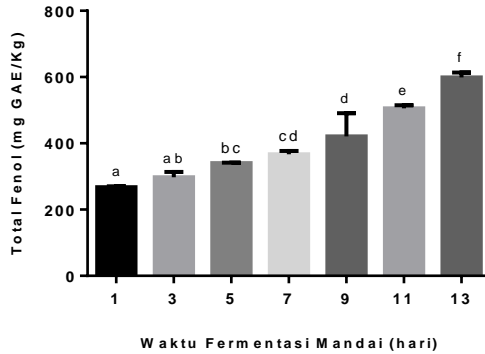
Kadar fenolik pada produk fermentasi mandai cempedak dengan penambahan *Lb.casei* mengalami kenaikan dari hari pertama sampai hari terakhir fermentasi. Untuk fermentasi mandai pada suhu 37 °C mengalami kenaikan lebih tinggi dibanding pada fermentasi mandai suhu 8°C.

Total fenol pada setiap metode fermentasi menunjukkan kenaikan pada setiap hari fermentasi. Fermentasi meningkatkan total fenol, seperti yang dilaporkan oleh Dajanata *et al* (2013) bahwa kandungan total fenol menunjukkan kenaikan lebih tinggi hingga 217% dan 859% pada kedelai hitam dan kedelai kuning yang telah difermentasi dibandingkan dengan kacang kedelai hitam dan kedelai kuning yang tidak difermentasi.

A



B



Gambar 23. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Total Fenol Mandai

Keterangan: (a) Fermentasi suhu 37 °C (b) Fermentasi suhu 8 °C

Diagram batang yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf α 5% . Total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat dalam 1 kg sampel kering (mg GAE kg⁻¹).

Kenaikan senyawa fenol sebagai antioksidan ini diduga disebabkan oleh adanya proses biotransformasi yaitu proses yang menggunakan enzim

pada suatu sel tanaman untuk mengubah kelompok fungsional suatu senyawa kimia yang terdapat didalamnya (Jayabalan, 2008).

Lb. casei memodifikasi profil komponen fenoliknya sehingga menyebabkan perbedaan signifikan antara total fenol pada hari ketiga hingga ketujuh yang difermentasi spontan (Rodríguez *et al.*, 2009).

Banu *et al* (2010) melaporkan bahwa total fenol adonan gandum hitam yang difermentasi dengan bakteri asam laktat (*Lac. lactis* ssp. *Lactis*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, dan *Lb. helveticus*) lebih tinggi dibandingkan dengan adonan gandum hitam yang difermentasi spontan serta menyimpulkan bahwa tipe fermentasi dan aktivitas metabolisme bakteri asam laktat mempengaruhi level komponen bioaktif yang dapat mengubah total fenol dari adonan gandum hitam dan roti gandum hitam. Senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang bermanfaat bagi tubuh sebagai penangkal radikal bebas dan penstabil oksigen singlet (Ramle *et al.*, 2008).

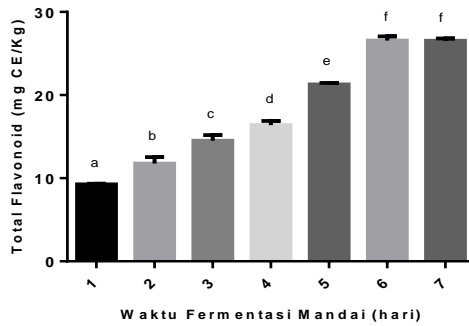
Senyawa fenolik meredam radikal bebas dengan mengikat ion logam dan menghambat sistem enzimatis yang berperan dalam pembentukan radikal bebas seperti *cyclo-oxygenase*, *mono-oxygenase* atau *xanthine oksidase* (Puangpronpitag *et al.*, 2008).

Total Flavonoid

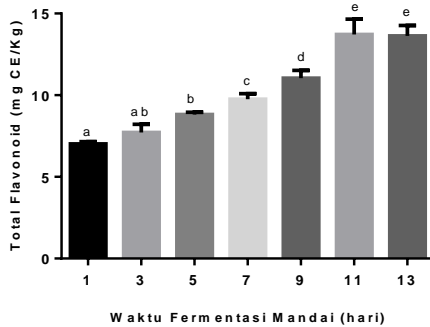
Flavonoid sering dikenal sebagai bioflavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Winarsi, 2007). Pengujian total flavonoid dilakukan untuk mengetahui nilai total flavonoid yang terdapat pada mandai yang telah di fermentasi dengan menambahkan *Lb.casei* selama 7 hari pada suhu 37°C dan selama 13 hari pada suhu 8°C. Pengujian ini dilakukan dengan pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometer dan nilai yang didapat diplotkan pada kurva standar katekin.

Total flavonoid meningkat seiring dengan meningkatnya waktu fermentasi mandai. Dajanata *et al.* (2013) menyatakan bahwa total flavonoid kedelai hitam yang di fermentasi menghasilkan nilai total flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan total flavonoid yang tidak di fermentasi. Park *et al.* (2015) melaporkan bahwa total flavonoid tanaman bunga magnolia (*Magnolia denudate*) meningkat seiring bertambahnya waktu fermentasi dengan total flavonoid tertinggi didapat pada waktu fermentasi terlama yaitu 72 jam (3 hari).

A



B



Gambar 24. Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Total Flavonoid Mandai

Keterangan: (a) Fermentasi suhu 37°C (b) Fermentasi suhu 8°C

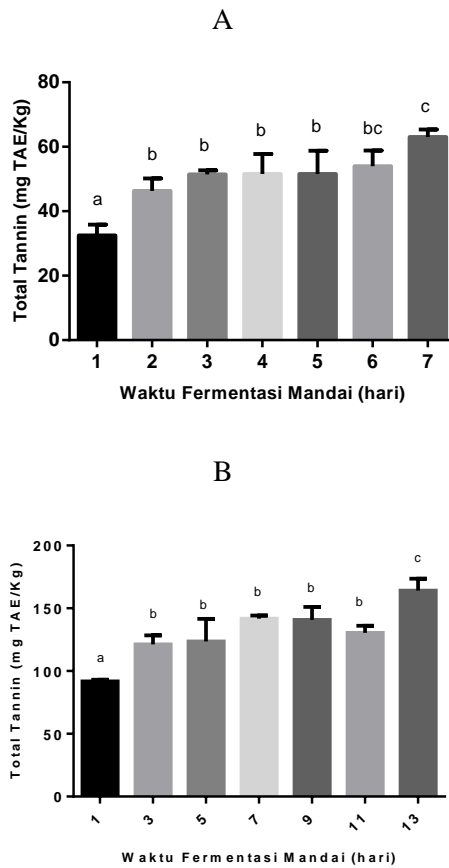
Diagram batang yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf α 5% . Total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat dalam 1 kg sampel kering (mg CE kg⁻¹).

Total Tanin

Senyawa tanin adalah senyawa astringent yang memiliki rasa pahit dari gugus polifenolnya yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Zat *astringent* dari tanin menyebabkan rasa kering

dan *puckery* (kerutan) di dalam mulut setelah mengkonsumsi teh pekat, anggur merah atau buah yang mentah (Ismarani, 2012).

Total tanin mandai yang difermentasi menggunakan *Lb. casei* sebagai starter berkisar antara $65,60 \pm 3,86$ mg TAE kg^{-1} pada suhu 37°C dan 43.42 ± 2.8 mg TAE kg^{-1} pada suhu 8°C .



Gambar 25. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Total Tanin Mandai

Keterangan: (a) Fermentasi suhu 37°C (b) Fermentasi suhu 8°C

Diagram batang yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf α 5% . Total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat dalam 1 kg sampel kering (mg TAE kg^{-1}).

Total Tanin yang terdapat pada mandai juga memiliki nilai yang sangat kecil karena sampel baru dapat terbaca setelah dilakukan pemekatan. Faktor yang mempengaruhi total tanin adalah fermentasi, fermentasi dapat meningkatkan juga menurunkan total tanin. Sesuai penelitian Nazarni *et al* (2016), bahwa ekstrak Jaruk Tegarun (bunga Tegarun yang difermentasi) memiliki total tanin yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak bunga Tegarun(*Crataeva nurvala*, Buch HAM), sedangkan Onyango *et al* (2013) melaporkan bahwa total tannin pada sorgum merah, sorgum putih dan *pearl millet* menurun jumlahnya seiring bertambahnya waktu fermentasi hingga hari ke 8.

Total tanin memiliki kecenderungan semakin besar nilainya, selain itu komponen bukan tanin hasil yang merupakan hasil metabolisme yang terdapat pada fermentasi mandai juga dapat terhitung pada perhitungan ini sehingga nilai total tanin dapat meningkat seiring dengan penambahan waktu fermentasi.

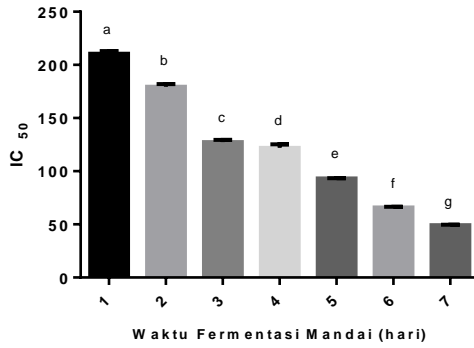
Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pengukuran dilakukan secara spektrofotometer UV-Vis. Penentuan panjang gelombang DPPH dilakukan pada 517 nm dan selanjutnya pengukuran dengan metode peredaman radikal DPPH dilakukan pada panjang gelombang tersebut.

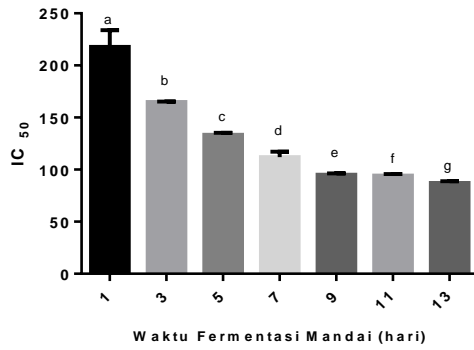
Prinsip dari metode DPPH adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Green, 2004; Gurav *et al*, 2007). Sikarwar *et al* (2014) juga mengemukakan bahwa ketika suatu larutan dicampur dengan zat yang mengandung aktivitas antioksidan, maka zat tersebut akan mendonorkan sebuah atom hidrogen. Hal inilah yang menyebabkan warna ungu larutan berubah menjadi kuning pucat. Warna kuning pucat menandakan kehadiran grup pikril. Pengukuran serapan dilakukan setelah dilakukan inkubasi selama 30 menit agar terjadi reaksi antara DPPH sebagai radikal bebas dengan sampel yang diuji.

Nilai IC_{50} mengalami penurunan seiring berlangsungnya lama fermentasi. Hal tersebut menunjukkan jika semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol mandai. Ibrahim *et al*. (2014) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan teh herbal *allspice*, *scaphium*, *gora* dan *cinnamon* yang difermentasi dengan *Lb.casei* lebih tinggi dibanding dengan teh herbal yang disajikan tanpa fermentasi. Penghambatan radikal bebas dari ekstrak buah *Myrtus communis* yang difermentasi dengan *Lb. plantarum* lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak difermentasi (Curiel *et al.*, 2015).

A



B



Gambar 26. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Nilai IC₅₀ Mandai

Keterangan: (a) Fermentasi suhu 37°C (b) Fermentasi suhu 8°C

Diagram batang yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf α 5% .

LAJU PENGERINGAN MANDAI CEMPEDAK

**Anton Rahmadi¹, Herry Setiawan¹, Ary Santoso², Fahrul Agus², dan
Wiwit Murdiyanto¹**

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Faperta, Universitas Mulawarman

2) Jurusan Ilmu Komputer, FMIPA, Universitas Mulawarman

Sebagian atikel ini telah dimuat di Prosiding Seminar Nasional PATPI
Makassar, tahun 2016

PENDAHULUAN

Pengeringan adalah yang cara pengawetan tertua terhadap bahan pangan. Proses ini penting untuk mengawetkan biji-bijian, buah-buahan, dan sayuran. Tujuan utama dalam produk pengeringan adalah pengurangan kadar air ke tingkat yang memungkinkan penyimpanan yang aman selama beberapa lama. Penurunan kadar air sampai batas tertentu dapat memperlambat laju kerusakan bahan akibat aktivitas biologis dan kimia sebelum bahan diolah (Adiletta *et al*, 2013). Parameter-parameter yang mempengaruhi waktu pengeringan adalah suhu, kelembaban udara, laju aliran udara, kadar air awal dan kadar air bahan kering (Hii *et al*, 2008). Dasar proses pengeringan adalah terjadinya penguapan air ke udara karena perbedaan kelembaban relatif antara udara dengan bahan yang dikeringkan (Peglow *et al*, 2009).

Proses pengeringan merupakan langkah awal yang memudahkan aplikasi produk ke bentuk-bentuk yang lebih luas. Secara garis besar, pengeringan dapat dibedakan atas pengeringan alami dan pengeringan buatan. Pengeringan secara alami dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, sedangkan pengeringan buatan dilakukan dengan menggunakan alat pengering mekanis. Pada umumnya, pengeringan yang digunakan adalah pengeringan matahari, karena biaya operasional yang murah (Hii *et al*, 2008). Permasalahan pokok pengeringan dengan sinar matahari adalah pada kestabilan laju pengeringan akibat suhu yang berubah-ubah selama proses pengeringan (Bal *et al*, 2010).

Alat pengering dengan kelembaban relatif yang rendah akan efektif untuk mengeringkan bahan, karena uap air dari bahan akan lepas ke udara pengering, untuk selanjutnya dibuang ke luar sistem (Fudholi *et al*, 2013). Laju pengeringan dalam sistem kontinu pada umumnya dilakukan dengan mengukur kelembaban relatif dalam sistem pengering, karena metode ini lebih efektif dibandingkan dengan mengukur bobot bahan selama proses pengeringan (Peglow *et al*, 2009). Salah satu permodelan yang digunakan untuk mengukur laju pengeringan berdasarkan kelembaban relatif yang diukur di dalam alat pengering adalah model Lewis atau disebut juga metode sederhana (Efremov, 2013). Muhandri *et al* (2015) memodelkan laju pengeringan *sphagetti* jagung dengan model Lewis dan didapatkan korelasi (r) berkisar 0,69 hingga 0,92. Model Page untuk laju pengeringan

umumnya akan meningkatkan korelasi (r) antara waktu pengeringan terhadap $\ln(-\ln(MR))$.

Berkaitan dengan hal tersebut, proses kontrol berbasis *platform* terbuka untuk alat pengering diteliti oleh Santoso (2014) telah diujicobakan pada produk daun pandan dan *chip* jahe. *Platform* sistem kontrol yang digunakan adalah Arduino, salah satu perangkat terbuka yang relatif mudah untuk dirangkaikan dengan berbagai sensor (Bell, 2014). Desain alat awal yang telah diteliti tersebut dievaluasi dan dikembangkan lebih lanjut oleh Setiawan (2015) terhadap produk pandan, jahe, pisang, dan singkong. Rahmadi *et al* (2016) menguji performa alat tersebut dengan bahan mandai (cempedak yang difermentasi).

TEKNIK PENGERINGAN

Bahan baku buah cempedak diperoleh dari pasar di sekitar Samarinda, Kalimantan Timur. Bagian kulit buah cempedak selanjutnya difermentasi menurut metode Rahmadi *et al* (2013).

Alat pengering yang digunakan adalah hasil penelitian fundamental dari penulis pertama (Rahmadi *et al*, 2016) dibantu oleh Setiawan (2015). Sensor pengukur kelembaban relatif yang digunakan adalah DHT22 dengan sensitivitas 0 s.d.100% dan akurasi $\pm 5\%$ (Saptadi, 2014). Pengeringan bertenaga hibrid matahari dan elemen pengering bertenaga listrik (104 W, suhu kerja maksimum 60 °C) digunakan pada daun pandan.

Dikarenakan keadaan cuaca yang tidak menentu, bahan-bahan yang lain dikeringkan menggunakan simulasi matahari (lampu pijar 200 W) dan elemen pengering. Data diperoleh dengan mengirimkan hasil pembacaan sensor DHT22 ke komputer monitor setiap 5-10 detik. Data kemudian diolah dengan menggunakan Microsoft Excel versi 2016 untuk menghitung nilai rasio kelembaban (MR) dan menentukan regresi linier dari rumus model Lewis dan Page.

Untuk mengukur MR digunakan persamaan (1) yang terdiri dari nilai kelembaban pada detik ke- i (M_i) dikurangi dengan nilai kelembaban pada kondisi setimbang (M_e). Hasil ini kemudian dibagi dengan nilai yang diperoleh dari pengurangan nilai kelembaban awal (M_o) terhadap M_e (Boubekri *et al*, 2009).

$$MR = \frac{M_i - M_e}{M_o - M_e}$$

(Persamaan 1)

Model Lewis secara umum dapat dilihat pada persamaan (2).

$$MR = e^{-k \cdot t}$$

(Persamaan 2)

Setelah diturunkan, maka, nilai logaritma natural dari MR akan berbanding lurus dengan kemiringan ($-k$) terhadap waktu pengeringan (Persamaan 3)

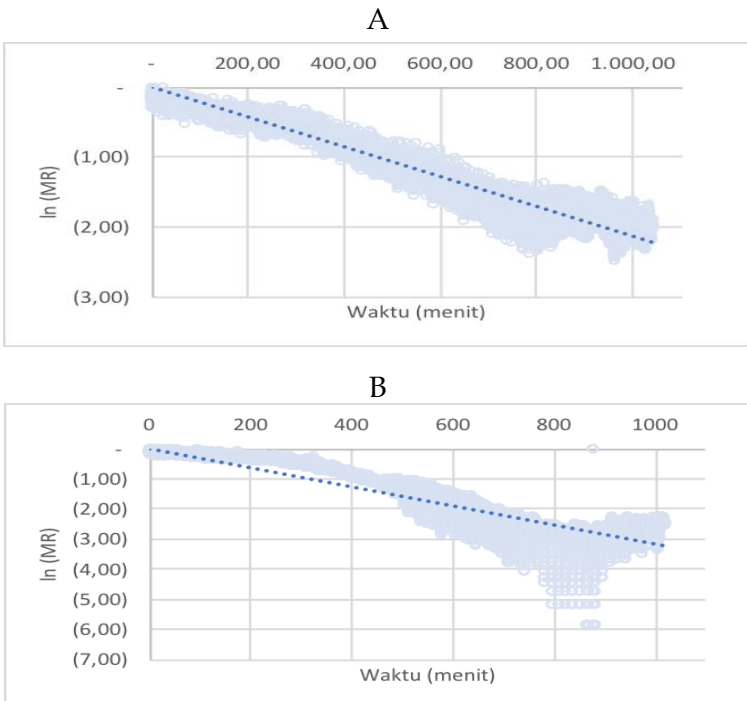
$$\ln(MR) = -k \cdot t$$

(Persamaan 3)

Model Page didapatkan dengan menurunkan persamaan (3) lebih lanjut, sehingga diperoleh persamaan (4)

$$\ln(-\ln(MR)) = \ln(k) + n \cdot t$$

(Persamaan 4)



Gambar 27. Grafik $\ln(MR)$ Pengeringan Mandai

Keterangan: Suhu (A) 45 dan (B) 50 °C

Pengeringan mandai dilakukan dalam dua suhu yang berbeda, yakni 45 dan 50 °C. Pada suhu yang lebih rendah, nilai koefisien k adalah lebih rendah, sehingga grafik regresi linier yang dihasilkan lebih landai. Akibatnya adalah penguapan uap air dari bahan berlangsung lebih lambat dibandingkan pada suhu lebih tinggi, Ini sejalan dengan hasil penelitian Muhandri *et al* (2015) yang menyatakan bahwa dalam pengeringan *sphagetti* jagung, nilai k pada suhu pengeringan 41 °C adalah lebih kecil dibandingkan pada suhu 63 °C. Menurut Gunhan *et al* (2005), faktor utama yang menentukan kecepatan pengeringan adalah suhu udara panas yang digunakan. Semakin tinggi selisih suhu yang digunakan, pengeringan akan berlangsung semakin cepat. Mencermati hasil penelitian Muhandri *et al* (2015), model Page untuk laju pengeringan pada umumnya akan meningkatkan korelasi (r) antara waktu pengeringan terhadap nilai $\ln(-\ln(MR))$. Penerapan model yang berbeda umumnya dilakukan apabila model Lewis yang sederhana tidak mampu menjawab pendekatan permodelan laju pengeringan (Gambar 26).

Mandai memiliki nilai k dari model Lewis yang rendah. Ini disebabkan karena hasil fermentasi kulit cempedak ini lebih padat, sehingga harus dibuburkan terlebih dahulu sebelum produk dapat dikeringkan. Akan tetapi, model Lewis sudah cukup baik untuk memodelkan laju pengeringan pada produk ini dengan nilai korelasi yang

tinggi, yakni 0,90 dan 0,96, sehingga perhitungan dengan model Page tidak dilanjutkan.

DAFTAR PUSTAKA

- [ICMSF] International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 2007. *MICRO ORGANISMS IN FOODS 2: Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*. Second edition. Blackwell Scientific Publications, USA.
- Abdillah, F. 2010. *Modifikasi tepung pisang tanduk (Musa paradisiaca formatypica) melalui proses fermentasi spontan dan pemanasan otoklaf untuk meningkatkan kadar pati resisten*. Thesis. Fakultas Pertanian, IPB, Bogor.
- Abodjo Kakou, C., Tagro Guehi, S., Olo, K., Akissi Kouame, F., Koffi Nevry, R. dan Marina Koussemon, C. 2010. *Biochemical and Microbial Changes During Traditional Spontaneous Lactic Acid Fermentation Process Using Two Varieties of Cassava For Production of a "Alladjan" Starter*. *International Food Research Journal*. Vol 17: 563-573.
- Adams, MR and Moss, M. 2008. *Food Microbiology*. Royal Society of Chemistry, UK.
- Ademiluyi. 2010. *Antioxidant properties of Soy-daddawa a condiment produced from fermented soybean (Glicine max (L.) Merrill)*. Servizi Editoriali Association Srl, Via Adamo Del Pero, 6, Como, 22100. Italy.
- Adeniyi, BA., Adetoye, A. dan Ayeni, FA. 2015. *Antibacterial activities of lactic acid bacteria isolated from cow faeces against potential enteric pathogens*. *African Health Sciences*. 15(3): 888–895. doi: 10.4314/ahs.v15i3.24
- Adiletta, G., Senadeera, W., Di Matteo, M., & Russo, P. 2013 *Drying kinetics of two grape varieties of Italy*.
- Afriani. 2010. *Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat Lactobacillus plantarum dan Lactobacillus fermentum Terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam dan Nilai pH Dadih Susu Sapi*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. Vol 13(6): 279-285.

- Afriani. 2010. *Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat Lactobacillus plantarum dan Lactobacillus fermentum Terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam dan Nilai pH Dadih Susu Sapi*. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan. Vol 13(6): 279-285.
- Aghababaie, M., Beheshti, M., Khanahmadi, M. 2014. *Effect of temperature and pH on formulating the kinetic growth parameters and lactic acid production of Lactobacillus bulgaricus*. Nutrition and Food Sciences Research. 1(1):49-56
- Agustina, W., & Andriana, Y. 2010. *Karakteristik Produk Yoghurt Susu Nabati Kacang Hijau (Phaseolus radiatus L.)*. In Pengembangan Teknik Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia (pp. 1–5). Yogyakarta.
- Akanni, O. O., S. E. Owumi, dan O. A. Adaramoye. 2014. *In Vitro Studies To Assess The Antioxidative, Radical Scavenging And Arginase Inhibitory Potentials Of Extracts From Artocarpus altilis, Ficus exasperate and Kigelia africana*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Vol. 4 (1): S492-S499.
- Alakomi, HL., Skyttä, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K. dan Helander, LM. 2000. *Lactic Acid Permeabilizes Gram-Negative Bacteria by Disrupting the Outer Membrane*. American Society for Microbiology Journal. 66(5): 2001-2005. doi: 10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000.
- Alcantara, C. dan Zuniga, M. 2012. *Proteomic and Transcriptomic Analysis of the Response to Bile Stress of Lactobacillus casei BL23*. Microbiology. DOI: 10.1099/mic.0.055657-0.
- Al-Fartosy, A. J. M. 2011. *Antioxidant Properties of Methanolic Extract from Inula graveolens L*. Turk J Agric For 35: 591-596.
- Ali, AA. 2010. *Beneficial role of lactic acid bacteria in food preservation and human health : A Review*. Research Journal of Microbiology. 5:1213-1221. DOI: 10.3923/jm.2010.1213.1221
- Amien. 2006. *Pentingnya Fermentasi BirKokoa*. http://www.alumni_ipd.or.id. Diakses tanggal 16 Februari 2007.
- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawati. 2011. *Analisis Pangan*. Dian Rakyat. Jakarta.

- Angkasa, D. dan Sulaeman, A. 2012. *Pengembangan Minuman Fungsional Sumber Serat dan Antioksidan dari Daun Hantap (Sterculia oblongata R. Brown.)*. Skripsi. Bogor: Departemen Gizi Masyarakat Institut Pertanian Bogor.
- Angmo, K., Kumari, A., Tek, S. dan Bhalla, C. 2016. *Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. Food Science and Technology*. 66:428-435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.057>
- Anita. 2012. *Studi Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Pir (Pyrus sp.) Varietas Ya- Lie dengan Isolat Lactobacillus plantarum B2 (Kajian Konsentrasi Susu skim dan Sukrosa)*. Skripsi. Jurusan THP. FTP. Universitas Brawijaya. Malang.
- Antarlina, S. S. 2009. *Identifikasi Sifat Fisik dan Kimia Buah-buahan Lokal Kalimantan*. Buletin Plasma Nutfah, 15(2), 80–90.
- AOAC, 1995. *Official Methods of Analysis*. Virginia: The Association of Official Analytical and Chemist. 16th ed. Arlington. AOAC Inc.
- APCC. 2009. *APCC Standards for virgin coconut oil*. <http://www.apccsec.org/document/VCNO.pdf> (3 Oktober 2013).
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, Sedarnawati, dan S. Budiyo. 1989. *Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi*. IPB, Bogor. dalam Legowo, A. M. dan Nurwantoro. 2004. *Diktat Kuliah Analisis Pangan*. Undip. Semarang.
- Arianti, D., Yusmarini, dan Pato, U. 2013. *Studi Pemanfaatan Kulit Cempedak Dalam Pembuatan Mandai*. Jurnal Repositori Universitas Riau.
- Armanto, R. dan Nurasih, A.S. 2008. *Kajian Konsentrasi Bakteri Asam Laktat dan Lama Fermentasi Pada Pembuatan Tepung Pati Singkong Asam*. Agritech. Vol 28(3): 97-101.
- Ashraf R, Shah NP. 2011. *Selective and differential enumerations of Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei and Bifidobacterium spp. in yoghurt — A review*, International Journal of Food Microbiology 149(3): 194-208. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.008.

- Atlas, Ronald M. (2004). *Handbook of Microbiological Media fourth Edition Volume 1*. United States Of America: CRC Press.
- Axena, M., Saxena, J., Nema, J., Singh, D., and Gupta, A. 2013. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Phytochemistry of Medicinal Plants. Vol 1(6):168-182
- Bakar, M. F. A., Karim, F. A., dan Perisamy. E. 2015. *Comparison of phytochemicals and antioxidant properties of different fruit parts of selected Artocarpus species from Sabah, Malaysia*. Sains Malaysiana. 44(3) :355-363.
- Bal, L.M., Satya, S., Naik, S.N. 2010. *Solar dryer with thermal energy storage systems for drying agricultural food products: A review*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 2298-2314. doi:10.1016/j.rser.2010.04.014
- Balcázar, JL., Vendrell, D., Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Muzquiz, JL., Girones, O. 2008. *Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish*. *Aquaculture*. 278(1-4): 188-191. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.014>
- Bali, V., Panesar, P.S., Bera, M.B. dan Keneddy, J.F. 2014. *Bacteriosins: Recent Trends and Potential Applications*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. DOI: 10.1080/10408398.2012.729231.
- Banu, I., Vasilean, I. dan Aprodu, I. 2010. *Effect of lactic fermentation on antioxidant capacity of Rye Sourdough and Bread*. *Food Technology Research*. 16(6): 571-576.
- Bautista-Gallego, J., Arroyo-Lopez, F.N., Rantsiou, K. dan Jimenez-Diaz, R. 2013. *Screening of Lactic Acid Bacteria Isolated From Fermented Table Olives With Probiotic Potential*. *Food Research International*. Vol 50: 135-142.
- Bell, C. 2014. *Introduction to Sensor Networks*. Beginning Sensor Networks with Arduino and Raspberry Pi, pp 1-17. Springer Verlag, Germany. doi: 10.1007/978-1-4302-5825-4.
- Berg, JM., Tymoczko, JL. dan Stryer, L. 2002. *Biochemistry*. 5th edition. W H Freeman. New York.

- Bertoldi, F.C., Sant'Anna, E.S. dan Beirao, L.H. 2004. *Reducing the Bitterness of Tuna (Euthynnus pelamis) Dark Meat With Lactobacillus casei subsp. casei ATCC 393*. Journal Food Technology and Biotechnology. Vol 42(1): 41-45.
- Bhanja T, Kumari A, Banerjee R. 2009. *Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi*. Bioresour. Technol. 100:2861–6. doi: 10.1016/j.biortech.2008.12.055
- Binns, Nino. 2013. *Probiotics, Prebiotics And The Gut Microbiota*. Edisi Monografi Singkat. ILSI (International Life Sciences Institute) Europe. Belgia.
- Bjorkroth, J. dan Koort, J. 2011. *Lactic Acid Bacteria*. Taxonomy and Biodiversity. University of Helsinki. Finland.
- Blana VA, Grounta A, Tassou CC, Nychas GJE, Panagou EZ. 2014. *Inoculated fermentation of green olives with potential probiotic Lactobacillus pentosus and Lactobacillus plantarum starter cultures isolated from industrially fermented olives*. Food Microbiology 38: 208-218. doi:10.1016/j.fm.2013.09.007.
- Boubekri, A., BenMoussa, H., Mennouche, D. 2009. *Solar Drying Kinetics of Date Palm Fruits Assuming A Step-Wise Air Temperature Change*. Journal of Engineering Science and Technology 4(3): 292-304.
- Breidt, F., McFeeters, R.F., Diaz, I.P. dan Ho Lee, C. *Fermented Vegetables*. Food Microbiology: Fundamental and Frontiers, 4th Ed. DOI: 10.1128/9781555818463.ch33.
- Briggiler-Marco, M., Capra, M.L., Quiberoni, A., Vinderola, G., Reinheimer, J.A. dan Hynes, E. 2007. *Nonstarter Lactobacillus Strains as Adjunct Cultures For Cheese Making: In Vitro Characterization and Performance in Two Model Cheeses*. Journal of Dairy Science. Vol 90(10): 4532-4542.
- Brooijmans, R., Vos, WM. dan Hugenholtz, J. 2009. *Electron transport chains of lactic acid bacteria-walkinh on crutches in part of their lifestyle*. F1000Reports Biologi . 1:34. doi: 10.3410/B1-34

- Bublis AJ. 2000. *Potential of Wheat-Based breakfast Cereals as Source of Dietary Antioxidants*. The American College of Nutrition, Massachusetts.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H. dan Wotton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Cahyaningsih, CT, Kushadiwijaya H, Tholib A. 2009. *Hubungan Higiene Sanitasi dan Perilaku Penjamah Makanan dengan Kualitas Bakteriologis Peralatan Makan di Warung Makan*. Berita Kedokteran Masyarakat 25(4):180-188.
<https://journal.ugm.ac.id/bkm/article/view/3552>
- Carr FJ, Hill D, Maida N. 2002. *The lactic acid bacteria: a literature survey*. Crit Rev Microbiol 28: 281-370.
- Chayari, I. dan Miliadiyah, I. 2005. *Kandungan Komponen Fenolat, Kadar fenolat total, dan aktivitas antioksidan madu dari beberapa daerah di jawa dan sumatera*. Laporan Tahunan Hibah Bersaing. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Coda, R., Rizzello, CG., Pinto, D. dan Gobbetti, M. 2012. *Selected Lactic Acid Bacteria Synthesize Antioxidant Peptides during Sourdough Fermentation of Cereal Flours*. Applied and Environmental Microbiology. 78(4):1087-1096. doi: 10.1128/AEM.06837-11
- Corsetti, A. dan Gobetti, M. 2002. *Lactobacillus plantarum*. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press Ltd. New York. Pages : 1501-1507.
- Corsetti, A., Gobbetti, M. dan Smacchi, E. 1996. *Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance from Lactobacillus sanfrancisco C57*. Food Microbiol. 13: 447-456.
- Cousin, FJ., Lynch, SM., Harris, HMB., McCann, A., Lynch, DB., Neville, B.A., Irisawa, T., Okada, S., Endo, A., O'Toole, PW. 2015. *Detection and Genomic Characterization of Motility in Lactobacillus curvatus: Confirmation of Motility in a Species outside the Lactobacillus salivarius Clade*. American Society for Microbiology Journals. 81: 41297-1308.
doi:10.1128/AEM.03594-14.

- Cowan, M.M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Review.
- Cueva C, Sanchez-Pata F, Monangas M, Walton GE, Gibson GR, Martin-Alvarez PJ, Bartolome B, Moreno-Arribas V. 2013. *In vitro fermentation of grape seed flavan-3-ol fractions by human faecal microbiota: changes in microbial groups and phenolic metabolites*. FEMS Microbiol Ecol 83: 792–805. doi:10.1111/1574-6941.12037
- Curiel, JA., Pinto, D., Marzani, B., Filannino, P., Farris, GA., Gobbetti, M. dan Rizzello, CG. 2015. *Lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of Myrtus communis berries*. Microbial Cell Factories. 14:67. doi: 10.1186/s12934-015-0250-4.
- Dajanta, K., Janpum, P. and Leksing, W. 2013. *Antioxidant capacities, total phenolics and flavonoids in black and yellow soybeans fermented by Bacillus subtilis: A comparative study of Thai fermented soybeans (thua nao)*. International Food Research Journal. 20(6): 3125-3132
- Dalié, DKD., Deschamps, A.M., Richard-Forget, F. 2010. *Lactic acid bacteria-Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review*. Food control. 21(4):370-380. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.011>
- De Angelis M, Di Cagno R, Huet C, Crecchio C, Fox PF, Gobbetti M. 2004. *Heat Shock Response in Lactobacillus plantarum*. Applied and Environmental Microbiology. Vol 70(3): 1336-1346. doi: 10.1128/AEM.70.3.1336-1346.2004.
- De Vugst L. & E. J. Vandamme. 1994. *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*, Microbiol., Genet Appl. Blackie Acad. and Professional, London.
- De Vuyst, L. and Tsakalidou, E. 2008. *Streptococcus macedonicus, a Multi-functional and Promising Species For Dairy Fermentations*. International Dairy Journal. Vol 18(2008): 476-485.
- De, VL, Leroy, F. 2007. *Bactericins from lactic acid bacteria: prouction, purification, and food applications*. Journal of molecular

microbiology and biotechnology. 13(4):194-9.
DOI:10.1159/000104752

- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., dan Mohammad, N.S., 2009. *Antioxidant activity of methanol extract of ferula assafoetida and its essential oil composition*. *Grasas Aceites*. 60(4): 405-412
- Desmiaty, Y.; Ratih H.; Dewi M.A.; Agustin R. 2008. *Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) dan Daun Sambang Darah (Excoecaria bicolor Hassk.) Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia*. *Ortocarpus*. 8:106-109.
- Di-Cagno, F., Surico, RF., Paradiso, A., Angelis, M., Salmon, J., Buchin, S., Gara, L. dan Gobbetti, M. 2009. *Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices*. *International Journal of Food Microbiology*. 128(3):473-483.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.017>
- Doughari, J. H. 2012. *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*. Hal: 1-32. Dalam: Rao, V. (ed.). *Phytochemicals-A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. InTech. Croatia
- Doughari, J. H. 2012. *Phytochemicals-A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/32936.pdf>. 21 Februari 2015.
- Doyle, MP, Buchanan, RL. 2012. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. American Society for Microbiology Press, USA.
- Efremov, G. 2013. *Describing of Generalized Drying Kinetics with Application of Experiment Design Method*. *Technical Sciences* 16(4): 309–322.
- Emmawati A, Jenie BSL, Nuraida L, Syah D. 2015. *Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Mandai yang Berpotensi Sebagai Probiotik*. *Agritech* 35(2): 146-155. doi: 10.22146/agritech.9400.
- Eswaranandam, S., Hettiarachchy, NS. Dan Johnson, MG. 2006. *Antimicrobial Activity of Citric, Lactic, Malic, or Tartaric Acids*

and Nisin-incorporated Soy Protein Film Against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella gaminara*. *Journal of Food Science*.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13375.x>

- Fardiaz S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan [Food Microbiology Analysis]*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjutan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Farhan H, Rammal H, Hijazi A, Hamad H, Daher A, Reda M, Badran B. 2012. *Invitro Antioxidant Activity of Ethanolic and Aqueous Extracts from Crude Malva parviflora L. Grown in Lebanon*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5(3): 234-238.
- Fiocco D, Capozzi V, Goffin P, Hols P. 2007. *Improved Adaption to Heat, Cold and Solvent Tolerance in Lactobacillus plantarum*. *Applied Genetics and Molecular Biotechnology* 77: 909-915. doi: 10.1007/s00253-007-1228-x.
- Fleet, G.H. 2003. *Yeast interactions and wine flavour - Review*. *Int. J. of Food. Microbiol.* 86: 11-22. doi:10.1016/S0168-1605(03)00245-9
- Frengova, GI., Emilina, SD. dan Beshkova, DM. 2014. *Carotenoid Production by Lactoso-Negative Yeasts Co-Cultivated with Lactic Acid Bacteria in Whey Ultrafiltrate. A Journal of Biosciences*. 58(7-8):562-567. **DOI:** <https://doi.org/10.1515/znc-2003-7-820>.
- Fudholi, A., Ruslan, M.H., Othman, M.Y., Zaharim, A., Sopian, K. 2013. *Mathematical Modelling of Solar Drying of Thin Layer Ginger*. Bab di dalam: Zaharim, A., Sopian, K. 2013. Latest Trends in Renewable Energy and Environmental Informatics, WSEAS.org. <http://www.wseas.org/main/books/2013/Malaysia/RESEN.pdf>
- Fuller, R. 1992. *Probiotics: The Scientific Basis*. Chapman and Hall. Vol 1: 398.
- Garcia, EF., Luciano, WA., Xavier, DE., da-Costa, WCA.,² Oliveira, KDS., Franco, OL., Júnior, MADM., Lucena, BTL., Picão,

- RC., Magnani, M., Saarela, MM. dan de-Souza, EL. 2016. *Identification of Lactic Acid Bacteria in Fruit Pulp Processing Byproducts and Potential Probiotic Properties of Selected Lactobacillus Strains*. *Frontiers in Microbiology*. 7:1371. doi: 10.3389/fmicb.2016.01371
- Gerald , W. dan Tannock.1997. *Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R & D*. *Trend in Biotechnology*. 15(7): 270-274. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(97\)01056-1](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(97)01056-1)
- Goncharova-Alves, S., Alves-Filho, O., & Eikevik, T.M. (Eds.). 2013. *Proceedings of the 6th Nordic Drying Conference (NDC2013)*, Danish Technological Institute and NTNU Trondheim (Norwegian University of Science and Technology), Danish Technological Institute, Copenhagen.
- Green, R.J. 2004. *Antioxidant Activity of Peanut Plant Tissues*. Thesis. North Caroline State University: Departement of Food Science, Raleigh.
- Guerra, N.P., Bernardez, P.F., Mendez., J., Cachaldora, P. dan Castro, L.P. 2006. *Production of Four Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria and Their Evaluation as Feed Additives for Weaned Piglets*. *Animal Feed Science and Technology*.
- Gunhan, T., Demir, V., Hancioglu, E., Hepbasli, A. 2005. *Mathematical modelling of drying of bay leaves*. *Energy Conversion and Management* 46: 1667–1679. doi:10.1016/j.enconman.2004.10.001
- Gurav, S., N. Deshkar., V. Gulkari., N. Daragkar. dan A. Patil. 2007. *Free Radical Scavenging Activity of Polygala Chinensis Linn*. *Pharmacologyline*. 2:245-253
- Gutiérrez, S., Martínez-Blanco, H., Rodríguez-Aparicio, LB., Ferrero, MA. 2016. *Effect of fermented broth from lactic acid bacteria on pathogenic bacteria proliferation*. *Journal of Dairy Science*. 99(4):2654-2665. doi: 10.3168/jds.2015-10439
- Hadriyono, K. R. P., Kurniawati, A. 2011. *Karakter kulit manggis, kadar polifenol dan potensi antioksidan manggis pada berbagai umur buah dan setelah buah dipanen*. Skripsi. Bogor: Departemen Agronomi dan Hortikultura Institut Pertanian Bogor.

- Haeng-Jeon, H., Ki-Won, L., Hae-Yeong, K., Dae-Kyun, C dan Hyong-Joo, L. 2006. *In Vitro Immunopotentiating Activities of Cellular Fractions of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kimchi and Bifidobacteria*. Journal of Microbiology and Biotechnology. 16(5):661-666.
- Hakim A. 2010. *Diversity of Secondary Metabolites from Genus Artocarpus (Moraceae)*. Nusantara Bioscience. Vol. 2(3): 146-156.
- Hanani, E. 2014. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Hari, A., Revikumar, K. G., dan Divya. D. 2014. *Artocarpus: A Review of Its Phytochemistry and Pharmacology*. Journal of Pharma Search. 9(1): 7-12.
- Hariyadi P, Hariyadi RD. 2009. *Petunjuk Sederhana Memproduksi Pangan yang Aman*. PT. Dian Rakyat
<http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/58556>
- Hartayanie, Laksmi, & Lindayani. 2013. *Potensi biji anggur (Vitis vinifera) sebagai antioksidan dan antibakteri*. Semarang.
- Hasanuddin. 2010. *Mikroflora Pada Tempoyak*. Agritech. Vol 30 (4): 218-222.
- Hashim, N.M., M. Rahmani, G. C. L. Ee, M. A. Sukari, M. Yahayu, W. Oktima, A. M. Ali, dan R. Go. 2012. *Antiproliferative Activity Of Xanthones Isolated From Artocarpus obtusus*. J. Biomed. Biotechnol. Vol. 2012: 1-9.
- Helinck, S., Le, BD., Moreau D., Yvon M. 2004. *Ability of thermophilic lactid acid bacteria to produce aroma compounds from amino acids*. American Society for Microbiology Journals. 70 (7): 3855-61. DOI:10.1128/AEM.70.7.3855-3861.2004
- Herawati, H. 2013. *Penentuan Umur Simpan Pada Produk Pangan*. J. Litbang Pertanian, 27(4): 124-130.
http://tekpan.unimus.ac.id/wp-content/uploads/2013/11/p3274082_penentuan_umur

- Hernandez, T., Estrella, I., Perez-Gordo, M., Alegria, E. G., Tenorio, C., Ruiz-Larrea, F., et al. 2007. *Contribution of malolactic fermentation by Oenococcus oeni and Lactobacillus plantarum to the changes in the nonanthocyanin polyphenolic composition of red wine*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 5260–5266.)
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia, Jilid II*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Hidayat, N., Padaga, M.C. dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Hii, C.L., Law, C.L., Cloke, M. 2008. *Modelling of Thin Layer Drying Kinetics of Cocoa Beans during Artificial and Natural Drying*. Journal of Engineering Science and Technology 3(1): 1-10.
- Hoi, T. M., P. V. The, D. N. Dai, N. T. Tra, B. T. Cham, L. T. Anh, N. V. Tuyen, T. D. Thang, dan I. A. Ogunwande. 2012 . *Antimicrobial, Antioxidant Activities and Cytotoxicity Evaluation of Artocarpus nigrifolius C. Y. Wu from Vietnam*. African Journal of Microbiology Research Vol. 7(15): 1326-1331.
- Hole AS, Rud I, Grimmer S, Sigl S, Narvhus J, Sahlstrøm, S. 2012. *Improved Bioavailability of Dietary Phenolic Acids in Whole Grain Barley and Oat Groat following Fermentation with Probiotic Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus johnsonii, and Lactobacillus reuteri*. J. Agric. Food Chem. 60: 6369–6375. doi:10.1021/jf300410h
- Holzafel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J., and Schillinger. 2001. *Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganism in food and Nutrition*. The American Journal of Clinical Nutrition.
- Hugenholtz, J., Sybesma, W., Groot, MN., Wisselink, W., Ladero, V., Burgess, K., Sinderen, DV., Piard, J., Eggink, G., Smid, EJ., Savoy, G., Sesma, F., Jansen, T., Hols, P. dan Kleerebezem, M. 2002. *Metabolic engineering og lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals*. Kluwer Academic Publisher. 82:217-235.

- Hur SJ, Lee SY, Kim YC, Choi I, Kim GB. 2014. *Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods*. Food Chemistry 160: 346–356. doi:10.1016/j.foodchem.2014.03.112
- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S. Benjakul, S., Tani, A., Maneerat, S. 2011. *Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains*. Food Control. 22(3-4):401-407. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.010>
- Ibrahim, N. M., Mat, I., Lim, V., dan Ahmad, R. 2013. *Antioxidant Activity and Phenolic Content of Streblus asper Leaves from Various Drying Methods*. Antioxidants. 2: 156-166.
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. dan Ibanez, F.C. 2005. *Microbiological, Physicochemical and Sensory Characteristics of Kefir During Storage*. Food Chemistry. Vol 90 (2005): 613-620.
- Ismarani. 2012. *Potensi senyawa tannin dalam menunjang produksi ramah lingkungan*. Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah.
- Isnaini, N. 2012. *Sukseksi Mikroba Pada Fermentasi Spontan Kelapa (Cocos nucifera)*. Tesis. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Isnindar, S. Wahyuono, dan E. P. Setyowati. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (Diospyros kaki Thunb.) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)*. Majalah Obat Tradisional. Vol. 16(3): 157–164.
- Jay, JM. 2012. *Modern Food Microbiology*. Springer Science, Germany
- Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., dan Swaminathan, K. 2008. *Changes in Free-radical Scavenging Ability of Kombucha tea during fermentation*. Food Chemistry.
- Jayanegara, A., dan Sofyan, A. 2008. *Penentuan Aktivitas Biologis Tanin Beberapa Hijauan Secara in Vitro Menggunakan 'Hohenheim Gas Test' dengan Polietilen Glikol Sebagai Determinan*. Media Peternakan. 31(1): 44-52
- Jayus., Setiawan, D. dan Giyarto. 2016. *Physical and Chemical Characteristics of Jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lamk.)*

Seeds Flour Produced Under Fermentation Process by Lactobacillus plantarum. Agriculture and Agricultural Science Procedia. Vol 9 (2016): 342-347.

- Joshi, R., Adhikari, S., Patro, BS., Chattopadhyay, S. dan Mukherjee, T. 2001. *Free radical scavenging behavior of folic acid: evidence for possible antioxidant activity*. Free Radical Biology and Medicine. 30(12):1390-1399. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00543-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00543-3).
- Kalyoussef S, Nieves E, Dinerman E, Carpenter C, Shankar V, Oh J. 2012. *Lactobacillus Proteins Are Associated with the Bactericidal Activity against E. coli of Female Genital Tract Secretions*. PLoS ONE. 7(11): e49506. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049506>
- Kandrsmith, R. 2014. *Compare DHT22, DHT11, and Sensirion SHT71*. Artikel online. Diakses: 15 April 2015. <http://goo.gl/vpmdPs>
- Kashaninejad, M., Mortazavi, A., Safekordi, A., Tabil, L.G. 2007. *Thin-layer drying characteristics and modeling of pistachio nuts*. Journal of Food Engineering 78: 98–108. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.09.007
- Katina, K., Laitila, A., Juvonen, R., Liukkonen, K.H., Kariluoto, S. dan Piironen, V. 2007. *Bran fermentation as a means to enhance technological properties and bioactivity of rye*. Food Microbiology. 24(2): 175- 186.
- Kedare, S. B. dan R. P. Singh. 2011. *Genesis and development of DPPH Method of Antioxidant Assay*. J Food Sci Technol. Vol. 48(4): 412–422.
- Kiani, H., Mousavi, S.M.A. dan Djomeh-Zahra, E. 2008. *Rheological Properties of Iranian Yoghurt Drink, Doogh*. International Journal of Dairy Science. Vol 3(2): 71-78.
- Kim Y, Goodner KL, Park JD, Choi J, Talcott ST. 2011. *Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of Camellia sinensis by oxidation during tea fermentation*. Food Chemistry 129: 1331–1342. doi:10.1016/j.foodchem.2011.05.012

- Klaenhammer, TR. 1993. *Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria*. FEMS Microbiology review. 12(1-3):39-85.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00012.x>
- Ko, H. H., Y. T. Tsai, M. H. Yen, C. C. Lin, C. J. Liang, T. H. Yang, C. W. Lee, dan F. L. Yen. 2013. *Norartocarpetin From A Folk Medicine Artocarpus communis Plays A Melanogenesis Inhibitor Without Cytotoxicity In B₁₆F₁₀ Cell And Skin Irritation In Mice BMC Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 13: 348.
- Kochummen, K.M. 1987. *Moraceae in Tree Flora of Malaya*. Forest Research Institute. Vol 2. Kepong, Malaysia.
- König H., Fröhlich J. 2017. *Lactic Acid Bacteria*. In: König H., Uden G., Fröhlich J. (eds) *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer, Cham. DOI:
https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5_1
- Korhonen, J. 2010. *Antibiotic Resistance of Lactid Acid Bacteria*. Dissertations In Forestry and Natural Sciences. University of Eastern. Finland.
- Kresnowati, MTAP, Suryani L, Affifah M. 2013. *Improvement of Cocoa Beans Fermentation by LAB Starter Addition*. Journal of Medical and Bioengineering 2(4): 274-278. doi: 10.12720/jomb.2.4.274-278
- Kumalaningsih, S., Wignyanto., Permatasari, V.R. dan Triyono, A. 2014. *Pengaruh Jenis Mikroorganisme dan pH Terhadap Kualitas Minuman Probiotik dari Ampas Tahu*. Staf Pengajar dan Alumni Teknologi Industri Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kumar, M. B. S., M. C. R. Kumar, A. C. Bharath , H. R. V. Kumar, T. R. P. Kekuda, K. C. Nandini, M. N. Rakshitha, dan H. L. Raghavendra. 2010. *Screening Of Selected Biological Activities Of Artocarpus lakoocha Roxb (Moraceae) Fruit Pericarp*. Journal of Basic and Clinical Pharmacy. Vol 1 (4): 239-245.
- Kusumowati, I. T. D., Sudjono, T. A., Suhendi, A., Da'i, M., Wirawati, R. 2012. *Korelasi kandungan fenolik dan aktivitas antiradikal ekstrak etanol daun empat tanaman obat Indonesia (Piper bettle, Sauropus androgynus, Averrhoa bilimbi, dan Guazuma ulmifolia)*. Jurnal Farmasi Indonesia. 13(1) :1-5

- Laiño, JE., Juarez, VM., Savoy, GG. dan LeBlanc, JG. 2014. *Applicability of a Lactobacillus amylovorus strain as co-culture for natural folate bio-enrichment of fermented milk*. International Journal of Food Microbiology. 191:10-16. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.031
- Laiño, JE., Leblanc, JG., Savoy, GG. 2012. *Production of natural folates by lactic acid bacteria starter cultures isolated from artisanal Argentinean yogurts*. Canadian Journal of Microbiology. 58(5):581-588. doi: 10.1139/w2012-026.
- Lambui, O. (2013). *Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Penghasil α dan β -Galaktosidase Produk Fermentasi Kulit Buah Cempedak (Artocarpus integer Thunb.) dan Buanga Tigarun (Crataeva nurvala Buch-Ham)*. Skripsi. Universitas Gajah Mada.
- Lavermicocca P, F. Valeria, A. Evidente, S. Lazzaroni, A. Corsetti, & M. Gobbetti. 2000. *Purification and characterization of novel antifungal compounds by sourdough Lactobacillus plantarum 21 B*. Appl. Environ Microbiol. 66:4084- 4090.
- LeBlanc, JG., Milani, C., Giori, GSG., Sesma, F., Sinderen, DW. Ventura, M. 2013. *Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective*. Current Opinion in Biotechnology. 24(2):160-168. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.08.005>
- Lee IH, Hung YH, Chou CC. 2008. *Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative activity, total phenolic and anthocyanin contents of black bean*. Int J Food Microbiol 121:150–6. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.09.008.
- Lefeber, T., Janssens, M., Moens, F., Gobert, W., & De Vuyst, L. (2011). *Interesting Starter Culture Strains for Controlled Cocoa Bean Fermentation Revealed by Simulated Cocoa Pulp Fermentations of Cocoa-Specific Lactic Acid Bacteria*. Applied and Environmental Microbiology, 77(18), 6694–6698. <http://doi.org/10.1128/AEM.00594-11>
- Lempong, M., dan Suhartati. 2013. *Potensi Pengembangan Cempedak (Artocarpus integer Merr.) pada Hutan Tanaman Rakyat Ditinjau dari Sifat Kayu dan Kegunaannya*. Info Teknis Eboni. 10(2): 69-83.

- Lempang, M., Mangopang, A.D., Palalunan Dan Hajar, 2012. *Sifat Dasar dan Kegunaan Kayu Sulawesi*. Jurnal Balai Penelitian Kehutanan Makassar.
- Leroy, F. dan Vuyst, De. L. 2004. *Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures For The Food Fermentation Industry*. Review: Trends in Food Science and Technology. 15: 67-78.
- Lewar, Y.S. 2016. *Rendemen, Sifat Kimia dan Aktivitas Antioksidan Bubuk Mandai dengan Variasi Suhu Pengeringan*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Mulawarman.
- Lim, L. B. L., Chieng, H. I., dan Wimmer, F. L. 2011. *Nutrient Composition of Artocarpus champeden and Its Hybrid (Nanchem) in Negara Brunei Darussalam*. ASEAN Journal on Science and Technology for Development. 28(2): 122–138.
- Lim, T.K. 2012. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*. Springer Science and Business Media. New York. 3: 1-917.
- Lin, M. dan Yen, C. 1999. *Antioxidative Ability of Lactic Acid Bacteria*. Journal of agricultural and food chemistry. 47(4):1460-1466. doi: 10.1021/jf981149I
- Ling, L. T., A. K. Radhakrishnan, T. Subramaniam, H. M. Chen, dan U. M Palanisamy. 2010. *Assessment of Antioxidant Capacity and Cytotoxicity of Selected Malaysian Plants*. Molecules. Vol. 15: 2139-2151.
- Liu, J. R, M. J. Chen and C. W. Lin. 2004. *Antimutagenic and Antioxidant Properties of Milk–Kefir and Soymilk–Kefir*. Department of Animal Science, National Taiwan University and Institute of BioAgricultural Sciences, Academia Sinica, Taiwan, Republic of China. October 16, 2004, 1 – 8
- Lonvaud-Funel, A. 1999. *Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine*. Kluwer Academic Publishers. 76: 317-331.
- Lye HS, The SS, Lim TJ, Bhat R, Ahmad R, Wan-Abdullah W, Liong MT. 2012. *Bioactive property of soymilk fermented by agrowastes-immobilized lactobacilli*. British Food Journal 114 (9): 1339 – 1353 doi:10.1108/00070701211258862

- M. and Gobetti, M. 2013. *Review exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation*. Food Microbiology. 33: 1-10
- Madhavi, Y., D. B Rao, dan T. R Rao. 2013. *Studies on Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Artocarpus communis Fruit Latex Against Selected Pathogenic Microorganisms*. Indo American Journal of Pharmaceutical Research. Vol. 13(3): 1360-1370.
- Mal, R., Radiati, L.E., Purwadi. 2013. *Effect of Storage Duration in Refrigerator Temperature on pH Value, Viscosity, Total Lactic Acid and Profiles Protein Dissolved of Goat Milk Kefir*. Skripsi. Universitas Brawijawa. Malang.
- Malanggi LP, Sangi MS, Paedong JJE. 2012. *Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill.) [Determination of Tanin Contents and Antioxidant Activity of Avocado Fruit Extract (Persea americana Mill.)]*. Jurnal Mipa Unsrat Online 1(1): 5-10.
- Mallesha., Shylaja, R. dan Selvakumar, D.J.H. 2010. *Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria From Raw and Fermented Products and Their Antibacterial Activity*. Recent Research in Science and Technology. Vol 2(6): 42-46.
- Mangalisu, A. 2015. *Kemampuan Fermentasi Lactobacillus plantarum pada Telur Infertil dengan Waktu Inkubasi yang Berbeda*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin.
- Marais, J. P. J., B. Deavours, R.A. Dixon, dan D. Ferreira. 2006. *The Stereochemistry Of Flavonoids*. Hal. 1-46. Dalam E. Grotebold (peny.) The Science of Flavonoids. Springer. USA.
- Marazza JA, Garro MS, de Giori SG. 2009. *Aglycone production by Lactobacillus rhamnosus CRL981 during soymilk fermentation*. Food Microbiology, 26(3), 333–339. doi: 10.1016/j.fm.2008.11.004
- Maria De Angelis., Raffaella Di Cagno., Claude Huet., Carmine Crecchio., Patrick F. Fox. dan Marco Gobetti. 2004. *Heat Shock Response in Lactobacillus plantarum*. Applied and Environmental Microbiology. Vol 70(3): 1336-1346.
- Marinova, G dan V. Batchvarov. 2011. *Evaluation of The Methods for Determination of The Free Radical Scavenging Activity by*

- DPPH*. Bulgarian Journal of Agricultural Science. Vol. 17 (1): 11-24.
- Marks, D.B., Marks, A.D., dan Colleen, M.S. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. EGC: Jakarta.
- Marsono, Y. 2008. *Prospek Pengembangan Makanan Fungsional*. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi, Vol. 7(1): 19-27.
- Martins S, Mussatto SI, Martinez-Avila G, Montanez-Saenz J, Aguilar CN, Teixeira JA. 2011. *Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation*. A review. *Biotechnology Advances* 29 (2011) 365–373. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.01.008.
- Masuda, S., Yamaguchi, H., Kurokawa, T., Shirakami, T., Tsuji, RF. dan Nishimura, I. 2008. *Immunomodulatory effect of halophilic lactic acid bacterium Tetragenococcus halophilus Th221 from soy sauce moromi grown in high-salt medium*. *International Journal of Food Microbiology*. 121(3): 245-252. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.10.011>
- Mathur, S. dan Singh, R. 2005. *Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review*. *International Journal of Food Microbiology*. 15(3):281-295. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008>
- Mesa, G. M. 2014. *Antihypertensive Potential of Plants Used in Cuba*. *Archives*. Vol. 2: 10-17.
- Messens W & L. De Vugst. 2002. *Inhibitory substances produced by Lactobacilli isolated from sourdoughs- a revue*. *Intl. J. Food Microbiol*. 72: 31-43.
- Misgiyarta dan Widowati. 2002. *Seleksi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) Indegenus*. (Prosiding).
- Moat, A. G., Foster, J.W., dan Spector, M. P. 2002. *Microbial Physiology*. Wilwy-Liss: New York.
- Molyneux, P. 2004. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*. *Songklanakar J. Sci. Technol*. Vol. 26(2): 211-219

- Montel, MC., Masson, F., dan Talon, R. 1998. *Bacterial role in flavour development. Meat science journal.* 49(1):S111-S123.
[https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)90042-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90042-0)
- Mousavi ZE, Mousavi SM, Razavi SH, Emam-Djomeh Z, Kiani H. 2010. *Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria.* World Journal of Microbiology and Biotechnology 27(1): 123-128. doi:10.1007/s11274-010-0436-1.
- Mousavi, ZE., Mousavi, SM., Razavi SH., Emam-Djomeh, Z. dan Kiani, H. 2011. *Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria.* World Journal of Microbiology and Biotechnology. 27(1): 123-128.
- Mozef, T., Risdian, C., Sukandar, E.Y. dan Soermadji, A.A. 2015. *Bioactivity of Ethyl Acetate Fraction from The Leaves of Sukun (Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg) in Preventing Atherosclerosis.* Procedia Chemistry. Vol 16 (2015): 106-112.
- Mu'nisa A, Wresdiyati T, Kusumorini N, Manalu W. 2012. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh [Antioxidant Activity of Clove Leaf Extract].* Jurnal Veteriner 13(3): 272-277.
- Mu'nisa, A., Wresdiyati, T., Kusumorini, N., dan Manalu. W. 2012. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh.* Jurnal Veteriner. Vol 13(3): 272-277.
- Muhandri, T., Rahmasari, G.N., Subarna, Hariyadi, P. 2015. *Model Laju Pengeringan Spaghetti Jagung Menggunakan Tray Dryer.* J. Teknol. dan Industri Pangan 26(2): 171-178. DOI: 10.6066/jtip.2015.26.2.171.
- Muhidin, N.H., N. JULI dan I.N.P. ARYANTHA. 2001. *Peningkatan kandungan protein kulit umbi kayu melalui proses fermentasi.* JMS 6(1): 1 – 12.
- Nahariah, A.M., Legowo, E., Abustam, A., Hintono, Y.B., Pramono. dan Yulianti, F.N. 2013. *Kemampuan Tumbuh Bakteri Lactobacillus plantarum pada Putih Telur Ayam Ras dengan Lama Fermentasi yang Berbeda.* Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan. Vol 3 (1): 33-39.
- Nazarni, R., Purnama, D., Umar, S., dan Eni, H. 2016. *The Effect of Fermentation on Total Phenolic, Flavonoid and Tannin Content*

and Its Relation to Antibacterial Activity in Jaruk Tigarun (Crataeva nurvala, Buch HAM). International Food Research Journal. Vol 23(1): 309-315.

Nelson, KE., Pell, AN., Schofield, P., dan Zinder, S. 1995. *Isolation and Characterization of an Anaerobic Ruminant Bacterium Capable of Degrading Hydrolyzable Tannins*. American Society for Microbiology. 61 (9). 3293–3298.

Nely, F. 2007. *Aktivitas Antioksidan Rempah Pasar dan Bubuk Rempah Pabrik dengan Metode Polifenol dan Uji AOM (Active Oxygen Method)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Nguyen, D.T.L., Koenradd, Van H., Cnockaert, M., De Brandt, E., Aerts, M., Thanh, L.B. dan Vandamme, P. 2013. *A Description of The Lactic Acid Bacteria Microbiota Associated With The Production of Traditional Fermented Vegetables in Vietnam*. International Journal of Food Microbiology. Vol 163 (2013): 19-27.

Ni, K., Wang, Y., Li, D., Cai, Y., Pang, H. 2015. *Characterization, Identification and Application of Lactic Acid Bacteria Isolated from Forage Paddy Rice Silage*. PLOS One Journal. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121967>

Ni'maturrohmah, W. (2014). *Pemanfaatan Limbah Kulit Buah Pisang Kepok (Musa paradisiaca) Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cuka Organik Dengan Penambahan Acetobacter aceti Dengan Konsentrasi Yang Berbeda*. Universitas Muhammadiyah Surakarta

Nisa, F.C., Kusnadi, J. dan Chrisnasari, R. 2008. *Viabilitas dan Deteksi Subletal Bakteri Probiotik pada Susu Kedelai Fermentasi Instan Metode Pengeringan Beku*. Jurnal Teknologi Pertanian. Vol 9(1): 40-51.

Nour AH, Mohammed FS, Yunus RM, Arman A. 2009. *Demusification of virgin coconut oil by centrifugation method: a feasibility study*. Int. J. Chem. Technol. 1:59-64. DOI: 10.3923/ijct.2009.59.64.

Nsogning, D S, Sacher, B., Kollmannsberger, H., Becker, T. 2017. *Key volatile aroma compounds of lactic acid fermented malt based beverages – impact of lactic acid bacteria strains*. Food Chemistry Journal. 229:565-573. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)90042-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)90042-0).

- Nugroho, A. T. 2012. *Studi Waktu Fermentasi Dan Jenis Aerasi Terhadap Kualitas Asam Cuka Dari Nira Aren (Arenga pinnata)*. Universitas Negri Yogyakarta.
- Nur HS. 2009. *Suksesi Mikroba dan Aspek Biokimiawi Fermentasi Mandai dengan Kadar Garam Rendah [Succession of Microbes and Biochemistry Aspects of Mandai Fermentation with Low Salt]*. Makara Sains 13(1): 13-16.
- Nur, H. S. 2009. *Suksesi mikroba dan aspek biokimiawi fermentasi mandai dengan kadar garam rendah*. Makara, SAINS, 13(1), 13–16.
- Nuraida L. 2015. *A Review: Health Promoting Lactic Acid Bacteria in Traditional Indonesian Fermented Foods*. Food Science and Human Wellness 4(2): 47-55.
<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.06.001>
- Nurhayati, Siadi, K., dan Harjono. 2012. *Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan pada Kadar Fenolat Total Pasta Tomat*. Indonesian Journal of Chemistry Science. 1(2): 158-163.
- Nuri. 2007. *Profil Kromatogram dan Spektrogram Isolat Antimalaria dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Artocarpus champeden Spreng*. Jurnal Ilmu Dasar. 8(2):142-147
- Oguntoyinbo, F.A dan Dodd, C.E.R. 2010. *Bacterial Dynamics During The Spontaneous Fermentation of Cassava Dough in Gari Production*. Food Control. Vol 21: 306-312.
- Ooi, L. G., dan Liong, M. T. 2010. *Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings*. International Journal of Molecular Sciences. Vol. 11(6): 2499-2522.
- Orwa, C. A., Kindt, R., Jamnadass, R., Anthony, S., dan Mutua. 2009. *Artocarpus integer*. Agroforestry Database. Vol 4: 1-5.
- Østlie, H., Floberghagen, V., Reinbold, G., Hammond, EG., Vegarud, G. dan Langsrud, T. 1995. *Autolysis of Dairy Propionibacteria: Growth Studies, Peptidase Activities, and Proline Production*.

- Ourlad, A.G.T. dan Sonia, D.J. 2015. *Cytotoxic Activity of Crude Extracts and Fractions From Premna odorata (Blanco), Artocarpus camansi (Blanco), and Gliricidia sepium (Jacq.) Against Selected Human Cancer Cell Lines*. Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine. Vol 5(12): 1037-1041.
- Panagou EZ, Hondrodinou O, Mallouchos A, Nychas GJE. 2011. *A study on the implications of NaCl reduction in the fermentation profile of Conservolea natural black olives*. Food Microbiology 28 (7): 1301-1307. doi:10.1016/j.fm.2011.05.008.
- Papadimitriou, K., Alegría, A., Bron, PA., , de-Angelis, M., Gobetti, M., Kleerebezem, M., Lemos, J., Linares, DM., Ross, P., Stanton, C., Turrone, F., Sinderen, DV., Varmanen, P., Ventura, M., Zúñiga, M., Tsakalidou, E., dan Kok, J. 2016. *Stress physiology of lactic acid bacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80(3): 837–890. doi: 10.1128/MMBR.00076-15
- Papagianni, M. 2012. *Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of industrially important compounds*. Computational and Structural Biotechnology Journal. 3. doi: 10.5936/csbj.201210003
- Pardal, S. J., Wattimena, G. A., Aswidinnoor, H., Herman, M., Listanto, E., & Slamet. 2004. *Transfer gen proteinase inhibitor II pada kedelai melalui vektor Agrobacterium tumefaciens untuk ketahanan terhadap hama penggerek polong (Etiella zinckenella Tr.)*. Jurnal Bioteknologi Pertanian, 9(1), 20–28.
- Park E, Kim H, Eom SJ, Paik H. 2015. *Antioxidative and Anticanceric Activities of Magnolia (Magnolia denudata) Flower Petal Extract Fermented by Pediococcus acidilactici KCCM 11614*. Molecules 20: 12154-12165. doi: 10.3390/molecules200712154\
- Parker, S. 1993. *Endclopedia of Chemistry*. Edisi kedua. Me Graw Hill Book Co. New York. Halaman 981. dalam Fajriati, Imelda. 2006. *Optimasi Metode Penentuan Tanin (Analisis Tanin secara Spektrofotometri dengan Pereaksi Orto-Fenantrolin)*. Kaunia, Vol. 2(2): 107-120.

- Patel, S., dan A. Goyal. 2012. *The Current Trends and Future Perspectives of Prebiotics Research: A Riview*. 3 Biotech (2012) 2: 115–125.
- Patel, S., Majumder, A. dan Goya, A. 2011. *Potentials of Exopolysaccharides from lactic acid bacteria*. Indian Journal Microbiology. 52(1): 3–12.. doi: 10.1007/s12088-011-0148-8
- Peglow, M., Metzler, T., Lee, G., Schiffter, H., Hampel, R., Heinrich, S., Tsotsas, E. 2009. *Measurement of Average Moisture Content and Drying Kinetics for Single Particles, Droplets and Dryers*. Bab di dalam: Tsotsas, E., dan Mujumdar, A.S. 2009. *Modern Drying Technology 2: Experimental Techniques*. Wiley Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.
- Pekal A, Pyrzynsk K. 2015. *Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea*. Int J Food Sci Nutr 66(1): 58-62. doi:10.3109/09637486.2014.959899
- Perez, RH., Zendo, T. dan Sonomoto, K. 2014. *Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications*. Microbial Cell Factories. 13(1).
- Perwiratami, C., Suzery, M. dan Cahyono, B. 2014. *Korelasi fenolat total dan flavonoid total dengan antioksidan dari beberapa sediaan ekstrak buah tanjung (Mimusops elengi)*. Skripsi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Pessione, E. dan Cirrincione, S. 2016. *Bioactive Molecules Released in Food by Lactic Acid Bacteria: Encrypted Peptides and Biogenic Amines*. *Frontiers in Microbiology*. 7:876. doi: 10.3389/fmicb.2016.00876
- Poutanen, K., Flander, L. dan Katina, K. 2009. *Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective*. Food Microbiology. 26(7)-693-699. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.011>
- Prakash. A., F. Rigelhof, dan E. Miller. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories Analytical Progress. http://www.medlabs.com/Dowloads/Antiox_acti_.pdf 20 Februari 2015.
- Pramono, Y.B., Rahayu, E.S., Suparmo. dan Utami, T. 2007. *Perubahan Mikrobiologis, Fisik dan Kimiawi Cairan Bakal Petis Daging*

Selama Fermentasi Kering Spontan. Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis. Vol 32(4): 213-221.

Prasad, N.P., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H., dan Jiang, Y., 2009. *Flavonoid contents and antioxidant activities from Cinnamomum sp.* *Journals Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10:627-632.

Primurdia, E. G., & Kusnadi, J. 2014. *Antioxidant Activity of Probiotic Drink From Dates Extract (Phoenix dactylifera L.) With the Isolates of L. plantarum and L. casei.* Jurnal Pangan Dan Agroindustri, 2(3), 98–109

Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. 2005. *Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(10), 4290–4302. doi:10.1021/jf0502698

Profil Perubahan Populasi BAL, pH, Kadar Flavonoid, dan Potensi Aktivitas Antioksidan pada Fermentasi Mandai Cempedak Higienis Tanpa Garam. Semnas PATPI, 50 Tahun PATPI. Universitas Lampung, Oktober 2017.

Putro, RFS, Amaliawati N, Sherly. 2016. *Pengaruh Lama Penyimpanan Makanan Khas Dayak Telu Ikan Furud (Garra sp.) Terhadap Angka Lempeng Total (ALT).* Teknolab 5: 32-35.

Rahayu, E., 2001. *Potensi Bakteri Asam Laktat di Bidang Industri Pangan.* Prosiding Seminar Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.

Rahayu, E.S. 2003. *Lactic Acid Bacteria in Fermented Foods of Indonesian Origins.* Agritech. Vol 23(2): 75-84.

Rahayu, E.S. dan Margino. 1997. *Bakteri Asam Laktat Isolasi dan Identifikasi.* PAU Pangan dan Gizi. UGM. Yogyakarta.

Rahayu, E.S., Sudarmadji, S., Wibowo, J. dan Djaafar, T.F. 1995. *Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Karakterisasi Agensia yang Berpotensi sebagai Biosafety Makanan Indonesia.* Laporan Penelitian, PAU Pangan dan Gizi. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

Rahayu, W.P. dkk. 2003. *Klasifikasi Bahan Pangan dan Resiko Keamanannya.* Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama

- Rahmadi A, Abdiah I, Sukarno MD, Purnaningsih T. 2013. *Karakteristik Fisikokimia dan Antibakteri Virgin Coconut Oil Hasil Fermentasi Bakteri Asam Laktat [Physicochemical and Antibacterial Characteristics of Virgin Coconut Oil fermented with Lactic Acid Bacteria]*. J. Teknol. Industri Pangan. 24(2):178-183. doi: 10.6066/jtip.2013.24.2.178.
- Rahmadi A, Murdiyanto W. 2015. *Kontrol Kualitas Antioksidan Produk Herbal Asal Kalimantan Timur dengan Alat Pengering Herbal Tenaga Matahari*. Laporan penelitian Hibah Fundamental. Universitas Mulawarman, Samarinda
- Rahmadi, A & G H Fleet. 2008. *The Occurrence of Mycotoxigenic Fungi in Cocoa Beans From Indonesia and Queensland, Australia. Proceeding of International Seminar on Food Science*. University of Soegiyapranata, Semarang INDONESIA (FMB-10).
- Rahmadi, A, B.S.L. Jenie dan N. Andijaya. 2002. *Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat untuk Meningkatkan Keamanan dan Umur Simpan Apel Malang Olah Minimal*. Prosiding Seminar Nasional PATPI. Malang.
- Rahmadi, A., Emmawati, A., Yuliani. 2017. *Bubuk dan Cuka Mandai: Produk Fungsional Lokal Generasi Kedua Hasil Fermentasi Cempedak (Artocarpus integer)*. Laporan Hibah PPT. Universitas Mulawarman, Samarinda
- Rahmadi, A., Hajar, S., Santoso, A., Agus, F., Saragih, B. 2014. *Assessments of Arduino as an Inexpensive Open Source Hardware Platform to Stream Thermal Changes in Food Processing*. Lead Presentation. Emerging Tecnology, Food Ingredient Asia, 15-16 October 2014. Jakarta.
- Rahmadi, A., Ilyas, Santoso, A., Agus, F., Setiawan, H., Murdianto, W. 2016. *Control of Hybrid Sun-Electrical Dryer for Agricultural Materials with Inexpensive Open Hardware Platform*. International Food Review Journal. Submitted manuscript no. IFRJ16737.
- Rahmadi, 2013. *Karakteristik fisikokimia dan antibakteri virgin coconut oil hasil fermentasi bakteri asam laktat [physicochemical and*

antibacterial characteristics of virgin coconut oil fermented with lactic acid bacteria]

- Rahmawati, N. D. 2015. *Aktivitas Antioksidandan Total Fenol Teh Herbal Daun Pacar Air (Impatiens balsamina) Dengan Variasi Lama Fermentasi Dan Metode Pengeringan*. Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Surakarta.
- Rahmi, N., Hamayani, E., Santosa, U., Darmadji, P. 2016. *Identifikasi Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Penghambatan Radikal pada Jaruk Tigarun (Crataeva nurvala, Buch Ham)*. *Agritech* 36(3): 317-326. <https://jurnal.ugm.ac.id/agritech/article/view/16604>
- Rakin, M., Vukasiovic, M., Siler-Marinkovic, S. dan Maksimovic, M. 2007. *Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate*. *Food Chemistry*. 100(2): 599-602. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.077>
- Ramalingum, N. dan M. F. Mahomoodally. 2014. *The Therapeutic Potential of Medicinal Foods*. *Advances in Pharmacological Sciences*. Vol. 2014: 1-18.
- Rashid, NYA., Jamaluddin, A., Raazak, DLA. dan Long, K. 2015. *Bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran fermented with lactic acid bacteria*. *Malaysian Journal of Microbiology*. 11(2):156-162.
- Ray, B dan Bhunia, A. 2014. *Fundamental Food Microbiology 5th Ed*. CRC Press, USA.
- Ray, B. 2004. *Fundamental Food Microbiology*. Third Edition. CRC Press LCC. New York.
- Reis, J.A., Paula, A.T., Casarotti, S.N. dan Penna, A.L.B. 2012. *Lactic Acid Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications*. *Food Engineering and Technology*. Vol 4: 124-140.
- Reyes-Nava, LA., Garduño-Siciliano, L., Estrada-delos SP., Hernández-Sánchez, H., A-Arauz, J Muriel, P. dan Rivera-Espinoza, Y. 2015. *Use of bile acids as a selection strategy for lactobacillus strains with probiotic potential*. *Journal of Food and Nutritional Disorders*. 5(1):doi:10.4172/2324-9323.1000187.

- Rgyri, AA., Zoumpopoulou, G., Karatzas, KG., Tsakalidou, E., Nychas, GE., Panagou, EZ dan Tassou, CC. 2013. *Food Microbiology*. 33(2):282-291. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.10.005>
- Rhee SJ, Lee JE, Lee CH. 2011. *Importance of Lactic Acid Bacteria in Asian Fermented Foods*. *Microbial Cell Factories* 10(1): 1-13. doi:10.1186/1475-2859-10-S1-S5
- Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., Rivas, B. D. L., Felipe, F. L. D., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J. M., dan Muñoz, R. 2009. *Food Phenolics and Lactic Acid Bacteria*. *International Journal of Food Microbiology*. 132: 79-90.
- Rofi'i, F. *Hubungan Antara Jumlah Total Bakteri dan Angka Katalase Terhadap Daya Tahan Susu*. 2009. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rohani, F. 2010. *Kajian Senyawa Antimikroba Bakteri Asam Laktat Heterofermentatif Isolat ASI*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Rohman, A. dan Riyanto, S. 2005. *Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning (Murraya paniculata (L) Jack) secara in vitro*. *Majalah Farmasi Indonesia*.
- Rohmatussolihat. 2009. *Antioksidan Penyelamat Sel-sel Tubuh Manusia*. *BioTrends*. Vol. 4(1): 5-9.
- Rorong, J.A., Sudiarso, Prasetya, B., Poli-Mandang, J., Suryanto, Edi. 2012. *Analisis Fitokimia Limbah Pertanian Daun Cengkih (Eugenia aromatica) Sebagai Biosensitizer untuk Fotoreduksi Besi*. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. Surabaya.
- Sadek, N.F., Wibowo, M., Kusumaningtyas, A. 2009. *Pengaruh Konsentrasi Garam dan Penambahan Sumber Karbohidrat Terhadap Mutu Organoleptik Produk Sawi Asin*. PKM-AI. IPB, Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/20261>
- Saha. M.R., Hasan. S. M. R., Akter. R., Hossain, M.M., Alam, M.S., Alam, M. A., Mazumder, M.E.H. 2008. *In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of the leaves of Mimosa elengi linn*. *Bangladesh Journal of Veteriner Medicine*. 6(2):197-200

- Salminen, S. dan Wright, A.V. 2004. *Lactic acid bacteria, microbiology and functional aspects*. New York NY (USA): Marcell Dekker, Inc.
- Sannino, C., Francesca, N., Corona, O., Settanni, L., Cruciata, M. dan Moschetti, G. 2013. *Effect of Natural Wine Making Process Applied at Industrial Level On The Microbiological and Chemical Characteristics of Wine*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol 116(3): 347-356.
- Santoso, A. 2014. *Desain dan Implementasi Sistem Kontrol Alat Pengerian Produk Herbal Menggunakan Mikrokontroler Berbasis Open Source*. Skripsi. FMIPA, Universitas Mulawarman. Samarinda, Indonesia.
- Santoso, U. 2016. *Antioksidan Pangan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Saptadi, H.A. 2014. *Perbandingan Akurasi Pengukuran Suhu dan Kelembaban Antara Sensor DHT11 dan DHT22 Studi Komparatif pada Platform ATMEL, AVR, dan Arduino*. *Jurnal Infotel* 6(2): 49-55.
- Saxena, M., Saxena, J., Nema, J., Singh, D., and Gupta, A. 2013. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. *Phytochemistry of Medicinal Plants*. 1(6):168-182
- Schulz, S. dan Dickschat, JS. 2007. *Bacterial volatiles: the smell of small organisms*. *Natural Product Reports Journal*. 24:814-842. Doi: 10.1039/B507392H
- Schwan, R.F., dan Wheals, A.E. 2004. *The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality*. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2004;44(4):205-21. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15462126>
- Schwan, R.F., Fleet, G.H. 2014. *Cocoa and Coffee Fermentations*. CRC Press, USA.
- Septiana, T.A., Muchtadi, D., dan Zakaria, F.R. 2002. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Diklorometana dan Air Jahe (Zingiber Officinale Roscoe) Pada Asam Linoleat*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 13(2).

- Setiawan, H. 2015. *Desain Alat Pengering Produk Pertanian Menggunakan Mikrokontroler Berbasis Open Source*. Skripsi. Faperta, Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Shekhar, T. C., G. Anju. 2014. *Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of Ageratum conyzoides Linn*. Leaves. American Journal of Ethnomedicine. Vol. 1(4): 244-249.
- Siezen RJ, Francke C, Renckens B, Boekhorst J, Wels M, Kleerebezem M. 2012. *Complete Resequencing and Reannotation of the Lactobacillus plantarum WCFS1 Genome*. J. Bacteriol. 194(1): 195-196. doi: 10.1128/JB.06275-11
- Sikarwar, M.S., B. J. Hui, K. Subramaniam, B. D. Valeisamy, L.K. Yean, dan K. Balaji. 2014. *A Review on Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg (breadfruit)*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 4(8): 091-097.
- Singh HB, Singh BN, Singh SP, Nautiyal CS. 2010. *Solid-state cultivation of Trichoderma harzianum NBRI-1055 for modulating natural antioxidants in soybean seed matrix*. Bioresour Technol 101:6444–53. doi: 10.1016/j.biortech.2010.03.057.
- Singh, A. P. 2002. *A Treatise on Phytochemistry*. Emedia Science Ltd. United Kingdom.
- Singleton, V.L. dan J.A Rossi. 1965. *Colorimetry of Total Phenolic with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent*. American Journal Enology and Viticulture. 16: 147.
- Singracha, P., Niamsiri, N., Visessanguan, W., Lertsiri, S., Assavanig, A. 2017. *Application of lactic acid bacteria and yeasts as starter cultures for reduced-salt soy sauce (moromi) fermentation*. 78:181-188. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.019>
- Sirisha, N., K.V.R. Rao, D.B. Rao dan T. R Rao. 2014. *Evaluation of antioxidant activities, phytochemical constituents and protein profiling of five varieties of Jackfruit (Artocarpus species) seeds*. International Journal of Pharma Sciences. Vol. 4(4): 626-631.
- Sisein E. A. 2014. *Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants*. Scholars Academic Journal of Biosciences.. 2(2): 110-118.

- Soendjoto, M. A., Riefani, M. K., & Ready, A. (2014, July). *TIGARON (Crataeva adansonii) Tumbuhan Lahan Basah, Bahan Jaruk Tigaron*. *Wetlands International*, 22(2), 16–19.
- Song HJ, Park SJ, Jang DJ, Kwon DY. 2017. *High consumption of salt-fermented vegetables and hypertension risk in adults: a 12-year follow-up study*. *Asia Pac J Clin Nutr* 26(4):698-707. doi: 10.6133/apjcn.042016.13
- Stamer, J.R. 1980. *Lactic Acid Bacteria*. Wesport Connecticut. Avi.
- Starzynska-Janiszewska A, Stodolak B, Jamróz M. 2008. *Antioxidant properties of extracts from fermented and cooked seeds of Polish cultivars of Lathyrus sativus*. *Food Chem* 109: 285–92. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.028
- Suardan, I.W., Suarsana, I.W., Sujaya, I.N. dan Wiryaman, K.G. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Kandidat Biopreservatif*. *Jurnal Veteriner*. Vol 8(4): 155-159.
- Subagyo, Margino, S., Triyanto, Setyati, W.A. 2015. *Pengaruh pH, Suhu Dan Salinitas Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Organik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid*. *Ilmu Kelautan*. 20(4): 187-194
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2007. *Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian [Analytical Procedures for Food Ingredients and Agriculture]*. Liberty. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, Suhardi. 2007. *Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., Bambang, H. dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Sudarsono, A. 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut Dalam Spesies Ikan Gindara (Lepidocibium flavobronneum)*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sumarsih, S. 2003. *Diktat Kuliah Mikrobiologi Dasar*. Fakultas Pertanian. Universitas Pembangunan Nasional Veteran. Yogyakarta.

- Sumendap, H. K., Pesik, M. U., & Lagarensen, B. E. S. 2015. *Penggunaan Cuka Aren (Arenga pinnata Merr) Dalam Pengolahan Makanan: Studi Eksperimen*. Jurnal Hospital Dan Pariwisata, 2(1), 1–107.
- Sun, J., Liu, J., Li, Z. Dan Nan, J. 2011. Optimization of Entrapping Conditions of Nitrifying Bacteria and Selection of Entrapping Agent. 8:166-172. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.10.027>
- Sunaryanto, R., Martius, E., dan Marwoto, B. 2014. *Uji Kemampuan Lactobacillus casei sebagai Agensia Probiotik*. Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia. Vol 1(1): 1-7.
- Suprihanto, A.J. 2009. *Pengaruh Jenis Bakteri Asam Laktat Terhadap Kualitas Dadih Susu Sapi Probiotik Selama Penyimpanan Dalam Suhu Ruang dan Suhu Rendah*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Suprihatin, 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNESA University Press. Surabaya.
- Supriyono, T. 2008. *Kandungan Beta Karoten, Polifenol Total Dan Aktivitas "merantas" Radikal Bebas Kefir Susu kacang Hijau (Lactobacillus bulgaricus dan Candida kefir) Dan Konsentrasi Glukosa*. Universitas diponegoro.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta.
- Surprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. UNESA University Press. Surabaya.
- Suryanto, E. 2008. *Kimia Oksigen Singlet: Sensitiser, Cahaya dan Reaktivitasnya Terhadap Asam Lemak Tak Jenuh*. Chemistry Progress. 1(2).
- Suseno, T.I.P., Surjoseputro, S. dan Anita, K. 2000. *Minuman Probiotik Nira Siwalan: Kajian Lama Penyimpanan Terhadap Daya Antimikroba Lactobacillus casei pada Beberapa Bakteri Patogen*. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi. Vol 1(1): 1-13.
- Susianti, E., Jumirah., dan Sudaryati, E. 2014. *Pemanfaatan Tepung Biji Cempedak (Artocarpus chempeden) dan Tepung Biji Durian*

(Durio zibethinus murr) Dalam Pembuatan Bakso Ikan. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatera Utara.

- Swain, M. R., Anandharaj, M., Ray, R. C., dan Rani, R. P. 2014. *Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics*. Review Article. Hindawi Publishing Corporation and Biotechnology Research International. Vol 2014: 1-20.
- Syah, Y. M., Sjamsul., Ahmad, A., Emilio, L., Ghisalberti., Hakim, E. H., dan Mujahidin D. 2004. *Two New Cytotoxic Isoprenylated Flavones, Artoindonesianis U and V, From The Heartwood of Artocarpus champeden*. *Fitoterapia*. Vol 75: 134-140.
- Syahrumsyah, H. 2003. *Aplikasi Pengolahan Abon Dari Mandai Cempedak*. Laporan Riset Dosen Muda Periode 2003-2004. Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Sybesma, W., Starrenburg, M.m Tijsseling, L., Hoefnagel, MHN. dan Hugenholts, J. 2018. *Effects of Cultivation Conditions on Folate Production by Lactic Acid Bacteria*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(8):4542-4548. doi: 10.1128/AEM.69.8.4542-4548.2003
- Taek, M. M. 2011. *Aktivitas Antimalaria Ekstrak Metanol Kulit Batang Cempedak terhadap Plasmodium Falciparum Sensitif dan Resisten-Klorokuin*. *Molucca Medica*. Vol.4(1): 37-41.
- Tahaku, N. 2014 *Hygiene Sanitasi Pengolahan Dan Uji Keberadaan Bakteri Escherichia coli Pada Es Buah Yang Dijajakan Dipasar Jajan Kota Gorontalo*. Thesis. Universitas Negeri Gorontalo. <http://eprints.ung.ac.id/5885/>
- Tamang, J. P., Watanabe, K., dan Holzapfel, W. H. 2016. *Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages*. *Frontiers In Microbiology*. Vol 7: 1-28
- Tang, Y. P., B. L. L. Linda, dan L. W. Franz. 2013. *Proximate analysis of Arthocarpus odoratissimus (Tarap) in Brunei Darussalam*. *International Food Research Journal*. 20(1): 409-415.
- Tansakul A, Chaisawang P. 2006. *Thermo-physical properties of coconut milk*. *J. Food. Eng.* 73:276-280.

- Taring, A. 2004. *Effect of Acetic Acid Fermented from Nira-aren Palm for Acidified Beef*. In *Teknologi Peternakan dan Veteriner* (pp. 116–122).
- Taufik, E. 2004. *Dadah Susu Sapi Hasil Fermentasi Berbagai Starter Bakteri Probiotik yang Disimpan pada Suhu Rendah*. *Media Peternakan*. Vol 27(3): 88-100.
- Teh SS, Ahmad R, Wan-Abdullah W, Liong MT. 2010. *Enhanced Growth of Lactobacilli in Soymilk upon Immobilization on Agrowastes*. *J. Food. Sci.* 75(3): M155-M164.
doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01538.x
- Tewtrakul, S., A. Itharat, P. Thammaratwasik, dan B. Ooraikul. 2008. *Anti-Allergic and Anti-Microbial Activities of Some Thai Crops*. *Songklanakarin J. Sci. technol.* Vol. 30(4): 467-473.
- Thammarutwasik, P., Hongpattarakere, T., Chantachum S., Kijroongrojana, K., Itharat, A., Reanmongkol, W., Tewtrakul, S. dan Ooraikul B. 2009. *Prebiotics-Review*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 31(4): 401-408.
- Tjandra, O., Rusliati, T.R., Zulhipri. 2011. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambutan Rapih (Nephelium lappaceum)*. Fakultas Kedokteran. Universitas Tarumanagara.
- Todorov, S., Gotcheva, B., Dousset, X., Onno, B. dan Ivanova, I. 2000. *Influence of Growth Medium on Bacteriocin Production in Lactobacillus Plantarum ST31*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 14(1):50-55. DOI: 10.1080/13102818.2000.10819062
- Trinh, NTN, Masniyom P, Maneesri, J. 2016. *Optimization of culture conditions for Acetobacter aceti TISTR 102 in coconut water with supplementary banana juice*. *International Food Research Journal* 23(3): 1300-1307 (2016).
[http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20\(03\)%202016/\(54\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/23%20(03)%202016/(54).pdf)
- Trotter, M., McAuliffe, OE., Fitzgerald, GF., Hill, C., Ross, P. dan Coffey, A. 2004. *Variable Bacteriocin Production in the Commercial Starter Lactococcus lactis DPC4275 Is Linked to the Formation of the Cointegrate Plasmid pMRC02*. *Applied and Environmental Microbiology*. 70(1): 34–42.
doi: 10.1128/AEM.70.1.34-42.2004

- Tzeng, C.W., F. L. Yen, L.T. Lin, C.W. Lee, M.H. Yen, W.S. Tzeng, dan C.C. Lin. 2014. Antihepatoma Activity of *Artocarpus communis* Is Higher in Fractions with High Artocarpin Content. *The Scientific World Journal*. Vol. 2014: 1-8.
- Ukheyanna, E., Suryani., Roswiem, A.P. 2012. *Aktivitas Antioksidan kadar fenolik dan flavonoid total tumbuhan suruhan*. Skripsi. Bogor: Departemen Biokimia Institut Pertanian Bogor.
- Utama, C.S., Sulistiyanto, B. dan Setiani, B.E. 2013. *Profil Mikrobiologis Pollard yang Difermentasi dengan Ekstrak Limbah Pasar Sayur pada Lama Peram yang Berbeda*. *Agripet*. Vol 13(2): 26-30.
- Valerio, F., Lavermicocca, P., Pascale, M., Visconti, A. 2004. *Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation*. *FEMS Microbiology Letters*. 233(2):289-295.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09494.x>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, Mtd, Mazur, M., & Telser, J., 2007, *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 , 44–84
- Vásquez, A. dan Olofsson, TC. 2015. *The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread*. *Journal of Apicultural Research*. 48:(3).
<https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.3.07>
- Verheij, E.W.M Dan R.E. Coronel. 1997 . *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2: Buah-buahan Yang dapat dimakan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Verheij, E.W.M. dan Coronel, R.E. 1992. *Plant Resources of South Asia Edible Fruits and Nuts*. Prosea Foundation. Bogor.
- Vervoort, LMT., Ronden, JE. dan Thijssen, HHW. 1997. *The potent antioxidant activity of the vitamin K cycle in microsomal lipid peroxidation*. *Biochemical Pharmacology*. 54(8):871-876.
[https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(97\)00254-2](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(97)00254-2)
- Vinay, M. N. S., B. S. Ramesh, R. Venkatachalapathy, K. H. Makari, dan C. K. Ramaganesh. 2013. *Evaluation Of Antioxidant Activity Of Artocarpus Hirsutus Methanolic Fruit Extract: An In Vitro Study*. *International Journal of Scientific Research*. Vol. 2(12): 58-59.

Vinderola, CG. dan Reinheimer, JA. 2003. *Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance*. Food Research International. 36(9-10):895-904. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00098-X)

Vitetta, L., Coulson, S., Thomsen, M., Nguyen, T. dan Hall, S. 2017. *Probiotics, D-Lactic acidosis, oxidative stress and strain specificity*. Gut Microbes. 8(4): 311–322.
doi: 10.1080/19490976.2017.1279379

Wahyuni, I. M. D., Muktiani, A. dan Christianto M. 2014. *Penentuan Dosis Tanin dan Saponin Untuk Defaunasi dan Peningkatan Fermentabilitas Pakan*. JITP. 3(3): 133-140

Wally, E., Mentang, F. dan Montolalu, R.I. 2015. *Kajian Mutu Kimiawi Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L.) Asap (Fufu) Selama Penyimpanan Suhu Ruang dan Suhu Dingin*. Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan. Vol 3(1): 7-12.

Wichienchot, S., P. Thammarutwasik, A. Jongjareonrak, W. Chansuwan, P. Hmadhlu, T. Hongpattarakere, A. Itharat, dan B. Ooraikul. 2011. *Extraction And Analysis Of Prebiotics From Selected Plants From Southern Thailand*. Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol.33(5): 517-523.

Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Lacticia Press. Cetakan Pertama. Yogyakarta.

Widowati, Sri., dan Misgiyarta., 2001. *Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.

Widyawaruyanti, A., N. C. Zaini, dan Syafruddin. 2011. *Mekanisme dan Aktivitas Antimalaria dari Senyawa Flavonoid yang Diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus Chempeden*)*. JBP. 13(2) : 67-77

Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta

Wouters, JA., Rombouts, FM., Kuipers, OP., de-Vos, WM. dan Abee, T. 2000. *The role of cold-shock proteins in low-temperature*

adaption of food-related bacteria. 23(2):165-173. *Systematic and Applied Microbiology*. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(00\)80001-6](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(00)80001-6)

- Wu SC, Su YS, Cheng HY. 2011. *Antioxidant properties of Lactobacillus-fermented and non-fermented Graptopetalum paraguayense E Walther at different stages of maturity*. *Food Chemistry* 129 (2011) 804–80. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.05.025
- Yamazaki, S., Kaneko, T., Taketomo, N., Kano, K. dan Ikeda, T. 2002. *Glucose metabolism of lactic acid bacteria changed by quinone-mediated extracellular electron transfer*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 66(10):2100-6. DOI:10.1271/bbb.66.2100
- Yang, S., Lin, C., Sung, CT dan Fang, J. 2014. *Antibacterial activities of bacteriocins: application on foods and pharmaceuticals*. *Frontiers in Microbiology*. 5: 241. doi: 10.3389/fmicb.2014.00241.
- Yasir, A. 2017. *Kualitas Organoleptik Daging Sapi Iris Fermentasi Menggunakan Kultur Bakteri Lactobacillus plantarum*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. http://repository.unhas.ac.id/handle/123456789/23539_simpan-libre.pdf
- Yonejima, Y., Ushida, K. dan Mori, Y. 2013. *Effect of Lactic Acid Bacteria on Lipid Metabolism and Fat Synthesis in Mice Fed a High-fat Diet*. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. 32(2): 51-58. doi: 10.12938/bmfh.32.51
- Youngson, R. 2005. *Antioksidan: Manfaat Vitamin C dan E bagi Kesehatan*. Penerbit Arcan. Jakarta.
- Yuliana, N. and E.I. Dizon. 2011. *Phenotypic Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tempoyak (Fermented Durian) Made in the Philippines*. *International of Journal Biology*, Vol 3 (2): 145-151.
- Yuliana, N., & Garcia, V. V. 2009. *Influence of Pediococcus acidilactici as a starter on the flavour of tempoyak (fermented durian)*. *Indian Journal of Biotechnology*, 8, 304–310

- Yuliana. 2008. *Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolay T5 yang berasal dari tempoyak*. Jurnal teknologi industri dan hasil pertanian. 73:2.
- Yuliani, N. 2005. *Komponen Asam Organik Tempoyak*. Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan, XVI(1), 90–95.
- Yuwono, B., Zakaria FR, Pandjaitan NK. 2014. *Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Penerapan Cara Produksi yang Baik dan Standar Prosedur Operasi Sanitasi Pengolahan Fillet Ikan di Jawa*. Manajemen IKM 7(1):10-19.
<http://jurnal.ipb.ac.id/index.php/jurnalmpi/article/view/4863>
- Zabidi, M. A. dan N. A. A. Aziz. 2009. *In vitro starch hydrolysis and estimated glyceamic index of bread substituted with different percentages of champedak (Artocarpus integer) seed flour*. Food Chemistry. Vol. 117(1): 64 – 68. Dalam Lim, L. B. L., H. I. Chieng dan F. L. Wimmer. 2011. *Nutrient Composition of Artocarpus champeden and Its Hybrid (Nanchem) in Negara Brunei Darussalam*. ASEAN Journal on Science and Technology for Development. Vol: 28(2): 122-138.
- Zago, M., Fornasari, M.E., Carminati, D., Burns, P., Suarez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J. dan Giraffa, G. 2011. *Characterization and Probiotic Potential of Lactobacillus plantarum Strains Isolated from Cheeses*. Food Microbiology. 28(2011): 1033-1040.
- Zaunmüller, T., Eichert, M., Richter, H. dan Uden, G. 2006. *Variations in the energy metabolism of biotechnologically relevant heterofermentative lactic acid bacteria during growth on sugars and organic acids*. Microbiology and Biotechnology. 72(3):421-9. DOI:10.1007/s00253-006-0514-3
- Zou Y, Lu Y, Wei D. 2004. *Antioxidant Activity of Flavonoid Rich Extract of Hypericum pertoratum L. in Vitro*. Journal Agriculture and Food Chemistry. 52(16): 5032-5039. doi: 10.1021/jf049571r
- Zoumpopoulou, G., Tzouvanou, A., Mavrogonatou, E., Alexandraki, V., Georgalaki, M., Anastasiou, R., Papadelli, M., Manolopoulou, E., Kazou, M., Kletsas, D., Papadimitriou, K., Tsakalidou, E. 2017. *Probiotic Features of Lactic Acid Bacteria Isolated from a Diverse Pool of Traditional Greek Dairy Products Regarding*

Specific Strain-Host Interactions. Athens. Greece.
doi: 10.1007/s12602-017-9311-9

Zubaidah, E., Aldina, N., & Nisa, F. C. 2010. *Studi Antioksidan Bekatul Dan Susu Skim Terfermentasi Bakteri Asam Laktat Probiotik (Lactobacillus plantarum J2 dan Lactobacillus casei)*. Jurnal Teknologi Pertanian, 11(1), 11–17.