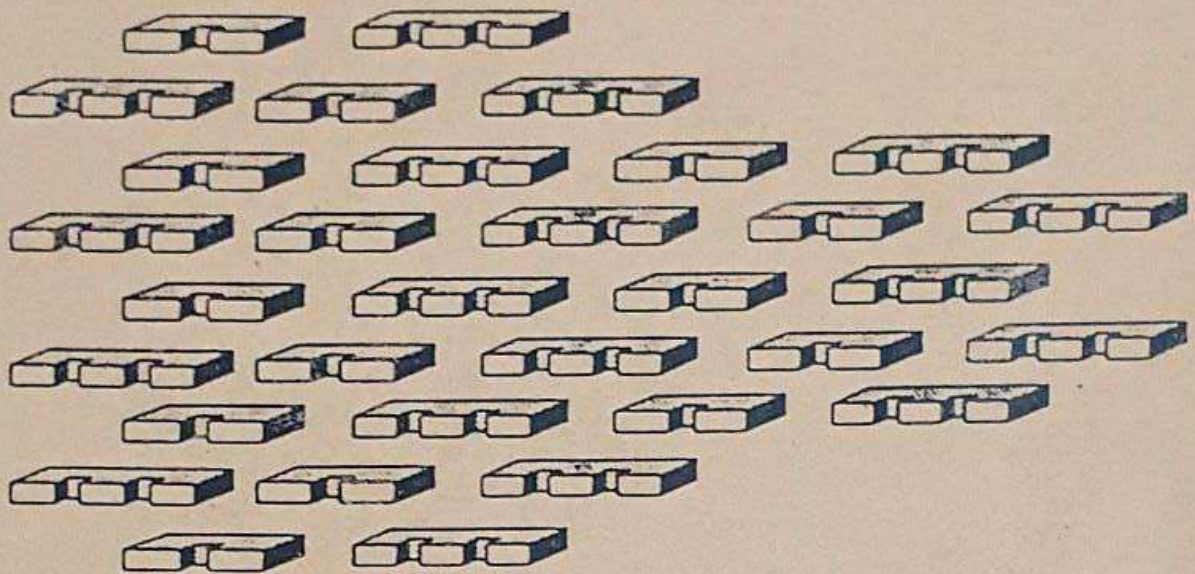


[Handwritten mark]

Bahan Pangan Hasil Fermentasi



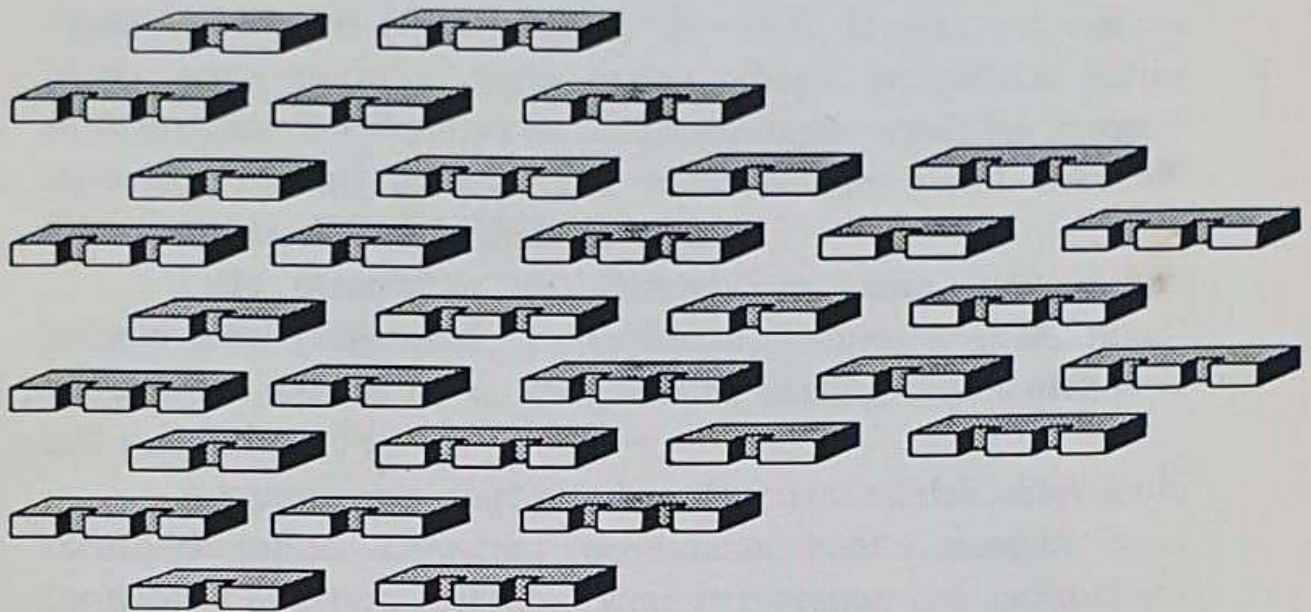
Oleh :

Endang S. Rahayu
Retno Indrati
Tyas Utami
Eni Harmayani
M. Nur Cahyanto

Food and Nutrition Culture Collection (FNCC)
Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi
Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta

1993

Bahan Pangan Hasil Fermentasi



Oleh :

Endang S. Rahayu

Retno Indrati

Tyas Utami

Eni Harmayani

M. Nur Cahyanto

Food and Nutrition Culture Collection (FNCC)
Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi
Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta
1993

KATA PENGANTAR

"Food and Nutrition Culture Collection" (FNCC) pada Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, yang memiliki tugas utama sebagai pengoleksi kultur serta mendistribusikannya untuk kepentingan penelitian maupun industri, kali ini menerbitkan buku dengan judul **BAHAN PANGAN HASIL FERMENTASI**.

Pada penerbitan ini, ditampilkan enam judul bahan pangan hasil fermentasi, yaitu: kecap, tempe, angkak, pikel, yogurt, dan nata de coco, yang masing-masing ditulis oleh para staf peneliti FNCC.

Adapun tujuan dari penulisan buku ini adalah untuk lebih memperkenalkan cara-cara pembuatan bahan pangan hasil fermentasi tersebut, mikrobial yang berperan dan perubahan-perubahan yang terjadi selama proses fermentasi. Penulisan ini didukung oleh sejumlah referensi dan penelitian atau uji-coba yang dilakukan di laboratorium menggunakan kultur murni koleksi FNCC.

Disadari bahwa isi buku ini masih jauh dari sempurna, sehingga saran-saran perbaikan dari para peminat maupun pembaca sangat dihargai. Semoga buku ini bermanfaat bagi yang memerlukan.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Ir. Slamet Sudarmadji selaku Direktur Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, atas semangat yang diberikan kepada para penulis, dan Saudara/saudari Sartono, Purwito, Djoko Sutriyanto, Novi Dwinawati, Pri Haryono dan Agus Sarwoko atas partisipasinya di dalam melakukan berbagai

penelitian, serta Dr.Ir. Sri Raharjo dan Dr.Ir. Djagal Wisesa yang berpartisipasi di dalam merancang gambar sampul dan tata letak.

September, 1993

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
BAB I. KECAP.....	1
BAB II. TEMPE.....	28
BAB III. ANGKAK.....	35
BAB IV. YOGURT.....	46
BAB V. PIKEL.....	60
BAB VI. NATA DE COCO.....	74

BAB I

K E C A P

PENDAHULUAN

Kecap merupakan penyedap berbagai masakan Indonesia yang dibuat dengan cara fermentasi kedelai. Penyedap lain yang juga dibuat dari fermentasi kedelai adalah tauco, namun produk ini kurang populer dibanding kecap. Kedua produk yang sangat mirip di dalam proses fermentasinya ini diperkirakan berasal dari China yang dibawa ke Indonesia oleh imigran China. Demikian juga istilah kecap maupun tauco diperkirakan berasal dari dialek China (China Selatan), masing-masing ke-tsiap dan tau-chiong atau tau-chiu.

Di China kecap telah dikenal lebih dari 3000 tahun yang lalu dengan nama Chiang-yu, produk ini diperkirakan masuk ke Jepang lebih dari 1000 tahun yang lalu. Di Jepang istilah shoyu atau sho digunakan untuk produk hasil hidrolisis secara enzimatis protein nabati atau hewani dengan adanya konsentrasi garam yang tinggi. Sehingga istilah ini, yang kalau di Indonesia serupa dengan kecap, termasuk di dalamnya kecap ikan seperti yang populer di Thailand, Vietnam dan negara-negara Asia Tenggara yang lain. Untuk memproduksi kecap ikan ini, sumber enzim proteolitik berasal dari jaringan ikan, terutama enzim-enzim pada isi perut. Sedang untuk memproduksi kecap dari bahan kedelai digunakan jamur *Aspergillus sp.* yang potensial sebagai produksi enzim protease, amilase dan lipase. Kecap Jepang yang disebut shoyu ini berbeda dengan kecap Indonesia

pada bahan dasar yang digunakan. Kecap Jepang dibedakan menjadi beberapa tipe didasarkan pada bahan dasar dan cara pembuatannya, diantaranya *koukuchi*, *usukuchi*, dan *tamari*. *Koukuchi* dibuat dari kedelai dan gandum dengan jumlah yang sama, warna sangat gelap yang berasal dari biji gandum yang disangrai terlebih dahulu sebelum digiling dan difermentasi. *Usukuchi* dibuat dari kedelai dan gandum dengan jumlah sama, tetapi gandum tidak disangrai sehingga warna tidak begitu gelap. *Tamari* dibuat dari kedelai dengan jumlah gandum yang lebih sedikit (10 %) (Fukushima, 1981). Di Korea, kecap ini dikenal dengan nama *Kanjang*.

Kecap menurut Standard Industri Indonesia (1984) adalah cairan kental yang mengandung protein, diperoleh dari perebusan kedelai yang telah difermentasikan dan ditambah gula, garam serta rempah-rempah. Salah satu kriteria untuk menilai kualitas kecap adalah kadar proteinnya. Protein yang terlarut di dalam filtrat kecap diperoleh dari hidrolisis protein kedelai oleh enzim jamur. Pada Standard Industri Indonesia (1984) telah ditetapkan dua mutu kecap yang didasarkan pada kadar proteinnya, yaitu mutu pertama dengan kadar protein minimum enam persen dan mutu kedua dengan kadar protein minimum dua persen. Syarat yang lain yaitu logam-logam berbahaya (Hg, Pb, Cu dan As) negatif dan bau serta rasa normal.

Didasarkan pada rasanya, kecap yang beredar di Indonesia dikelompokkan menjadi dua, kecap manis dengan kandungan gula (26-61 %) dan sedikit garam (3-6 %), dan kecap asin dengan sedikit kandungan gula (4-19 %) dan garam dalam jumlah besar (18-21 %). Diantara kedua kecap tersebut, yang lebih populer adalah kecap manis. Di Indonesia, kecap digunakan sebagai bumbu yang dicampurkan pada saat masakan dibuat atau sebagai penyedap rasa yang ditambahkan di meja makan. Beberapa jenis masakan Indonesia yang menggunakan

kecap adalah: sate, tongsenng, soto, semur, pecel, gado-gado, tumis.

PEMBUATAN KECAP

Proses pembuatan kecap pada prinsipnya terdiri dari: (1) Fermentasi kedelai (koji); (2) Fermentasi di dalam larutan garam (moromi); (3) Ekstraksi, filtrasi dan pemasakan (penambahan bumbu), yang urutan prosesnya disajikan pada Gambar 1.

Bahan dasar yang digunakan untuk membuat kecap adalah kedelai, baik kedelai hitam maupun kedelai kuning tanpa adanya pencampuran dengan bahan lain untuk meningkatkan rasio karbon/nitrogen. Sedang kedelai yang telah dihilangkan minyaknya tidak digunakan sebagai bahan dasar kecap.

Perendaman, proses ini ditujukan untuk hidrasi biji kedelai sehingga dalam proses pemasakan diperlukan waktu yang lebih pendek. Perendaman biji kedelai dilakukan selama 2-12 jam (semalam). Untuk perendaman yang lama, pada interval waktu tertentu air rendaman perlu diganti dengan air yang bersih, karena timbulnya fermentasi oleh bakteri, terutama bakteri Gram positif, pembentuk spora yang terdapat pada kedelai. Pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan adanya buih pada permukaan air rendaman, dapat menimbulkan flavor yang tidak dikehendaki pada hasil akhir. Kedele yang telah direndam ini beratnya akan meningkat menjadi 2,10-2,15 berat semula.

Pemasakan, proses ini ditujukan untuk pelunakan biji kedelai, merusak proteinase inhibitor serta untuk membunuh bakteri yang terdapat pada permukaan kedelai. Pelunakan biji kedelai diperlukan untuk mempermudah hidrolisis oleh enzim jamur, karena protein dan karbohidrat kedelai dalam keadaan alamiahnya sulit dihidrolisis oleh enzim jamur. Pada dasarnya

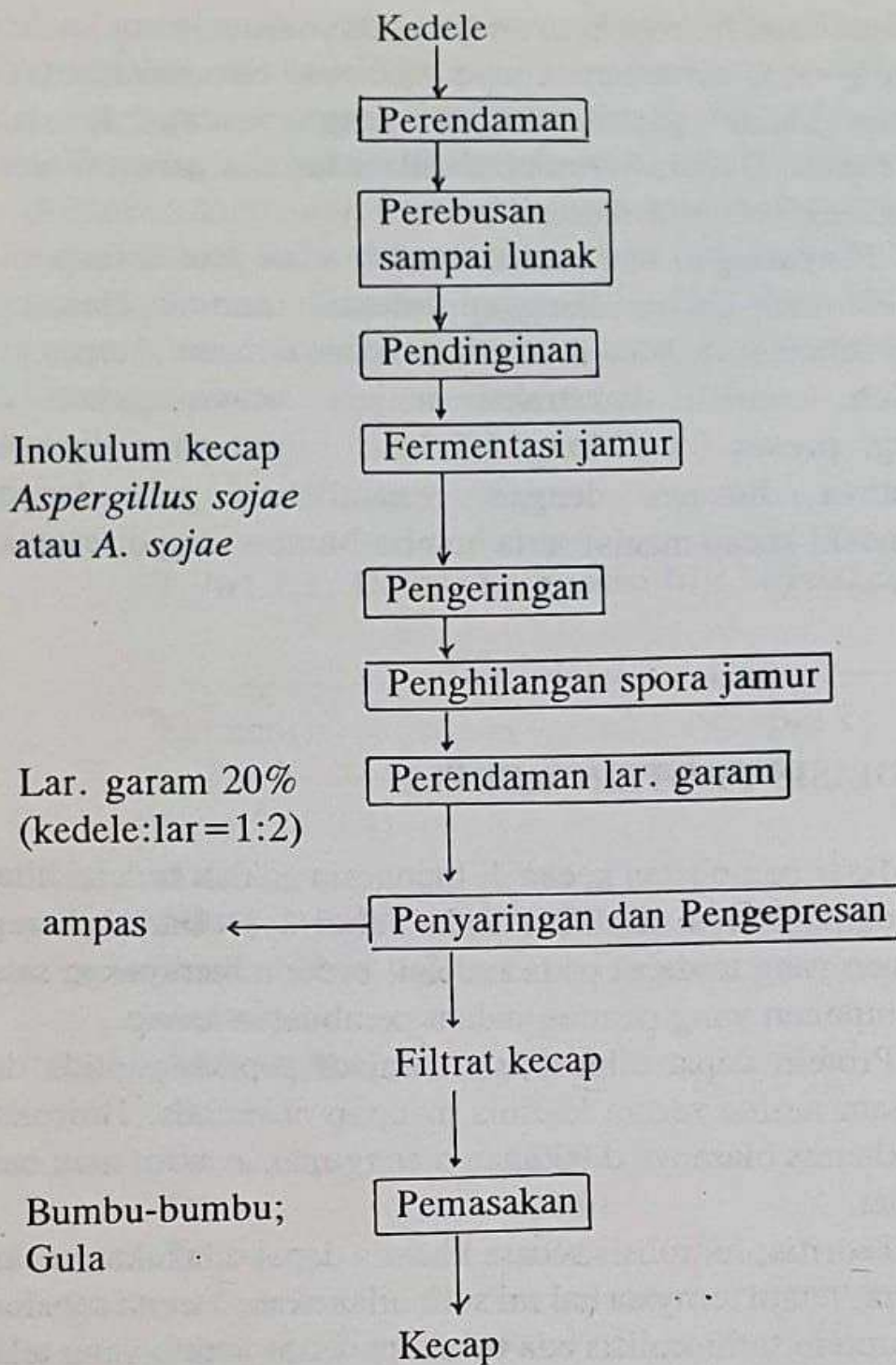
proses pemasakan diakhiri setelah kedelai menjadi lunak (matang).

Pendinginan, kedelai yang telah masak didinginkan dan dikering-anginkan dengan cepat. Kedele masak yang sedikit kering baik untuk pembuatan koji, karena kondisi ini efektif untuk mencegah pertumbuhan bakteri pembusuk *Bacillus subtilis* yang dapat menyebabkan koji berlendir. Kadang-kadang, untuk menurunkan kadar air kedelai masak ditambahkan pati, misalnya tapioka.

Fermentasi oleh jamur (koji). Di Indonesia proses fermentasi jamur dalam pembuatan kecap masih banyak dilakukan secara spontan yaitu tanpa diinokulasi dengan biakan murni. Setelah selesai perebusan, air rebusan dibuang dan kedelai didinginkan ($50-60^{\circ}\text{C}$), lebih lanjut kedelai disebar di atas nyiru bambu dengan ketebalan 3-5 cm, dan ditempatkan dalam rak-rak di ruang fermentasi. Pada awal fermentasi, kadang-kadang kedelai yang akan difermentasi ditutup merang atau karung goni untuk mempercepat tumbuhnya jamur di atas kedelai. Baik nyiru maupun karung goni yang telah digunakan berulang-ulang, demikian pula rak-rak serta ruang fermentasi (udara dan debu), merupakan sumber mikrobial yang aktif di dalam fermentasi koji.

Pengeringan dan penghilangan spora jamur. Pengeringan ditujukan untuk menurunkan kadar air kedelai yang telah difermentasi sehingga spora yang menempel dipermukaan mudah dihilangkan. Secara tradisional pengeringan dilakukan menggunakan sinar matahari 1-2 hari, namun kini pengeringan dapat dilakukan dengan pengering buatan dengan suhu diatur sekitar 50°C .

Fermentasi dalam larutan garam (moromi). Setelah kedelai bersih dari spora selanjutnya direndam dalam larutan garam 20 %, dengan perbandingan antara kedelai dan air garam 1:2, atau sampai kedelai terendam seluruhnya. Selama proses perendaman ini terjadi peristiwa ekstraksi molekul-molekul



Gambar 1.1. Diagram alir proses pembuatan kecap

sederhana hasil hidrolisis enzim yang dihasilkan jamur ke dalam larutan garam, serta tumbuhnya mikrobia osmotoleran (tahan terhadap kadar garam tinggi) yang penting di dalam pembentukan flavor. Fermentasi dalam larutan garam biasanya berlangsung selama beberapa bulan.

Penyaringan dan pemasakan, setelah proses fermentasi dalam larutan garam dianggap selesai, moromi diekstraksi dengan pemanasan dan diikuti dengan penyaringan. Ampas yang diperoleh kembali diekstraksi dengan larutan garam dan disaring, proses ini diulang 4-5 kali. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dimasak dengan penambahan gula (apabila dikehendaki kecap manis) serta bumbu-bumbu yang disesuaikan dengan selera.

HIDROLISIS PROTEIN KEDELE

Bahan dasar pembuatan kecap di Indonesia adalah kedelai hitam yang komposisinya disajikan pada Tabel 1.1. Dari beberapa komponen yang terdapat pada kedelai, protein merupakan salah satu komponen yang penting dalam pembuatan kecap.

Protein dapat dihidrolisis menjadi peptida-peptida dan asam-asam amino secara khemis maupun ensimatis. Hidrolisis secara khemis biasanya dilakukan menggunakan asam atau basa yang kuat.

Teoritis, hidrolisis secara khemis dapat dilakukan secara sempurna, tetapi ternyata hal ini sulit dilakukan, karena sebelum semua protein terhidrolisis ada beberapa asam amino yang telah rusak. Hidrolisis ini dapat dilakukan menggunakan 20,5 % HCl mendidih selama 12-48 jam dengan sistem pendingin balik (Haurowitz, 1950) atau menggunakan 6 N HCl pada suhu 110°C selama 24 jam (Kimmel, 1964). Asam kuat lain yang sering digunakan adalah 8 N H₂SO₄. Hasil hidrolisisnya merupakan

campuran asam-asam amino, yang sebagian mengalami kerusakan, misalnya triptopan, serin dan treonin. Rahayu (1985) menyebutkan bahwa hidrolisis secara kimia menggunakan HCl 6 N selama 8 jam diperoleh hasil 60 % protein kedelai dirombak ke bentuk terlarut. Secara teori persentase ini masih dapat ditingkatkan dengan menambah waktu hidrolisis, tetapi kerugian yang diperoleh pada hasil hidrolisis juga semakin besar, yaitu kerusakan beberapa asam amino serta timbulnya odor yang khas.

Tabel 1.1. Daftar komposisi biji kedelai hitam

Keterangan	Biji kedelai hitam
Kalori (4:9:4)	528
Air (g)	11,3
Nitrogen total (g)	5,96
Protein (N x 6,25)	37,3
Lemak (g)	13,4
Karbohidrat (g)	68,0
Abu (g)	4,8
Ca (mg)	595
P (mg)	462
Fe (mg)	9,9

Sumber : Slamet dkk., 1978.

Secara teori, hidrolisis sempurna pada protein juga dapat dilakukan menggunakan enzim. Dua enzim yang berperan penting dalam proses ini yaitu protease yang memecah protein

menjadi peptida-peptida dan berikutnya yaitu peptidase yang memecah peptida-peptida menjadi asam-asam amino. Kimmel (1964) menyebutkan bahwa hidrolisis menggunakan kombinasi protease dan peptidase dapat memecah 90 % ikatan protein. Hidrolisis secara enzimatis ini dapat digunakan untuk mencegah terjadinya kerusakan-kerusakan beberapa asam amino yang terjadi selama hidrolisis dengan asam atau basa. Tetapi hidrolisis enzimatis ini ternyata membutuhkan waktu yang lebih lama serta pengaturan kondisi yang lebih kompleks.

Proses hidrolisis kimia yang lebih sederhana, cepat dan murah daripada proses fermentasi ini dapat pula digunakan di dalam pembuatan kecap, namun produk yang dihasilkan tidak memiliki flavor khas hasil fermentasi dan kecap yang diproduksi dengan cara ini ternyata kurang disukai.

FERMENTASI KEDELAI (KOJI)

Hidrolisis komponen kompleks kedelai oleh jamur atau lebih sering disebut fermentasi kedelai merupakan tahap yang penting di dalam proses pembuatan kecap, taucho serta produk fermentasi yang lain dengan bahan dasar kedelai. Proses ini sering disebut sebagai pembuatan koji.

Selama proses pembuatan koji terjadi perombakan senyawa kompleks biji kedelai secara enzimatis. Enzim yang penting adalah enzim protease yang akan menghidrolisis protein kompleks yang tidak larut menjadi polipeptida, peptida, dan lebih lanjut menjadi asam amino. Perombakan protein kedelai oleh jamur dalam fermentasi memang tidak seluruhnya berbentuk asam amino karena protease jamur mempunyai spesifikasi memotong ikatan peptida secara acak sehingga hasil utamanya berupa peptida-peptida. Selama proses ini juga terjadi hidrolisis pati menjadi disakarida dan monosakarida, dan

hidrolisis sukrosa oleh invertase.

Selama proses fermentasi terjadi kenaikan nitrogen terlarut, asam amino maupun amonia. Perubahan lainnya yaitu adanya kenaikan gula reduksi hasil pemecahan sukrosa oleh invertase maupun hidrolisis pati oleh amilase. Derajat keasaman dan suhu juga meningkat, sedang kadar air kedelai menurun. Perubahan komposisi selama fermentasi jamur telah dipelajari oleh Yong (1971) dalam Wood dan Yong (1975) dan diperoleh hasil seperti disajikan pada Tabel 1.2.

Di Indonesia proses fermentasi jamur dalam pembuatan kecap masih banyak dilakukan secara spontan yaitu tanpa diinokulasi dengan biakan murni jamur. Di Thailand dan Malaysia seperti halnya di Indonesia, fermentasi juga dilakukan secara spontan (Bhumiratana dkk., 1980). Jamur yang banyak tumbuh selama fermentasi ini adalah *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* dan *Penicillium* (Bhumiratana dkk., 1980).

Judoamidjojo (1986) telah mengisolasi beberapa jamur pada koji yang diambil dari beberapa pabrik kecap di Indonesia, antara lain *Aspergillus flavus*, *Eurotium rubrum*, *Eurotium chevalieri*, *E. repens*, *A. restrictus*, *A. niger*, *Penicillium purpurogenum*, *Rhizopus oryzae*. Demikian pula Rahayu dkk. (1987) menyebutkan bahwa jamur yang tumbuh selama fermentasi koji di dalam pembuatan kecap adalah *Aspergillus oryzae*, *A. sojae*, *A. parasiticus*, *Rhizopus oryzae* dan *Absidia*. Dengan tumbuhnya berbagai jamur ini menyebabkan proses fermentasi tidak terkendali, dan hasil degradasi proteinnya rendah.

Selama pembuatan koji ternyata khamir dan bakteri juga aktif. Rahayu dkk., (1987) menyebutkan bahwa jumlah bakteri pada pembuatan koji adalah 10^5 - 10^{10} sel/gram koji, dengan bakteri dominan *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus sp.* Tumbuhnya bakteri ini dikarenakan kondisi kedelai masak merupakan substrat yang baik untuk *Bacillus*, khususnya apabila kadar air kedelai masak ini cukup tinggi.

Tabel 1.2. Perubahan komposisi campuran kedelai dan gandum selama fermentasi jamur

Waktu (jam)	pH	Suhu	Kadar air (bb)	N-terlarut total (g% bk)	Nitrogen amino (g% bk)	Nitrogen amonia (g% bk)
0	6,55	28,5	47,0	0,57	0,00	0,02
18	6,49	28,5	49,0	0,63	0,02	0,04
22	6,44	30,5	48,0	0,62	0,09	0,03
29,5	6,28	41,0	49,0	1,04	0,34	0,07
42,0	6,74	—	47,0	1,07	0,49	0,11
47,0	6,86	39,0	42,0	1,25	0,29	0,20
52,5	6,90	36,0	39,0	1,30	0,26	0,30
66,0	7,08	32,0	36,0	1,44	0,39	0,34
73,0	7,34	31,5	34,0	1,59	0,32	0,40
90,5	7,48	—	35,0	1,59	0,33	0,39
96,5	7,50	30,0	34,0	1,58	0,33	0,39

Sumber : Yong (1971) dalam Wood dan Yong (1975)

FAKTOR-FAKTOR YANG PERLU DIPERHATIKAN

Suhu dan waktu pemasakan. Pada pembuatan kecap secara tradisional, pemasakan biji kedelai biasanya dilakukan pada waktu yang cukup lama kira-kira 4-5 jam. Pemasakan yang terlalu lama ini menyebabkan komponen kedelai yang terlarut meningkat. Untuk memperpendek waktu pemasakan, kini banyak dilakukan pemasakan dengan tekanan.

Kondisi perlakuan panas selama pemasakan sangat

mempengaruhi "susceptibility" protein kedelai untuk dihidrolisis oleh protease jamur. Menurut Yokotsuka (1977) dengan waktu pemasakan yang lebih pendek tapi menggunakan tekanan yang tinggi ternyata mampu meningkatkan aktivitas proteolitik, seperti disajikan pada Tabel 1.3. Ternyata pemasakan dengan tekanan 7,0 kg/cm² selama 15 detik dapat meningkatkan pemecahan sekitar 10 % dibanding dengan cara konvensional seperti terlihat pada baris pertama dalam Tabel 3.

Tabel 1.3. Pengaruh kondisi pemasakan kedelai pada pemecahan protein oleh enzim.

Tekanan uap (kg/cm ²)	Waktu pemasakan (menit)	Pemecahan protein dalam larutan enzim (persen) garam 0%, 37 oC, 7 hari
0,9	45	86
1,2	10	91
1,8	8	91
2,0	5	92
3,0	3	93
4,0	2	94
5,0	1	95
6,0	0,5	95
7,0	0,25	95

Sumber : Yokotsuka (1972) dalam Yokotsuka (1977)

Penelitian serupa juga telah dilakukan oleh Poesponegoro (1977). Pemasakan di dalam otoklaf dengan tekanan ternyata juga mampu meningkatkan nitrogen terlarut hasil fermentasi jamur maupun fermentasi larutan garam, seperti terlihat pada Tabel 1.4. Lebih lanjut Poesponegoro menjelaskan bahwa dalam langsung dengan tekanan 5 psi., kedelai masih tampak putih dan mentah tetapi dengan tekanan 15 psi., kedelai sudah hangus. Hasil yang memberikan pelarutan nitrogen tertinggi yaitu pada pemasakan menggunakan tekanan 10 psi.

Tabel 1.4. Pengaruh cara pemasakan kedelai terhadap hidrolisis protein pada tahap fermentasi jamur* dan fermentasi dalam larutan garam**

Keterangan (persen)	Cara pemasakan *		
	langsung	otoklaf, tekanan 5 psi	10 psi 15 psi
N terlarut **	5,85	10,62	10,18 8,53
N terlarut ***	20,09	55,95	61,24 59,05

Sumber : Poesponegoro (1977)

Keterangan :

* Waktu 1 jam

** Kondisi fermentasi jamur pada suhu 30°C selama tiga hari.

*** Kondisi fermentasi dalam larutan garam NaCl 18 %, suhu 30°C, selama 30 hari.

Aerasi. Jamur adalah mikrobia aerob yaitu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Fermentasi jamur pada pembuatan kecap dengan jumlah oksigen yang kurang menyebabkan pertumbuhan jamur terhambat. Bahkan apabila kondisinya benar-benar anaerob akan tumbuh bakteri anaerob penghasil racun seperti *Botulinus* (Wood dan Yong, 1975). Adanya oksigen yang berlebihan juga merugikan, karena akan menyebabkan permukaan biji kedelai cepat menjadi kering sehingga menghambat pertumbuhan jamur. Apabila oksigen yang berlebihan terjadi setelah pertumbuhan miselia, jamur akan melakukan metabolisme dengan cepat dan menghasilkan panas yang berlebihan yang dapat merugikan pertumbuhan jamur itu sendiri atau sporulasi terjadi lebih cepat (Wood dan Yong, 1975). Difusi udara ke dalam biji kedelai secara perlahan dan seragam merupakan aerasi yang paling baik. Pada fermentasi jamur, aerasi secara perlahan-lahan dilakukan dengan membolak-balik biji kedelai setiap hari, dengan cara ini kecuali terjadi aerasi, kenaikan suhu sampai ke batas merugikan dapat dicegah.

Suhu fermentasi. Suhu yang baik untuk fermentasi jamur adalah 25-35 °C. Yokotsuka (1977) menyebutkan bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan jamur kira-kira 35 °C tetapi suhu untuk produksi enzim adalah 30 °C, sehingga fermentasi lebih banyak dilakukan pada suhu sekitar 30 °C. Pada suhu lebih besar 40 °C akan merugikan proses fermentasi, sehingga perlu diturunkan dengan membolak-balik biji kedelai yang sedang difermentasi.

Kadar air. Perendaman dan pemasakan kedelai sebelum proses fermentasi akan menyebabkan kadar air biji meningkat dan biji mengembang serta lunak. Pada keadaan demikian mudah terjadi penetrasi miselia ke dalam biji, sehingga komponen di dalamnya mudah digunakan oleh jamur.

Narahara dkk. (1981) menyebutkan bahwa kadar air biji kedelai harus dijaga relatif rendah untuk mencegah terjadinya

kontaminasi oleh bakteri. Steinkraus (1964) dalam Shurtleff dan Aoyagi (1979) menyebutkan bahwa *A. oryzae* tumbuh baik pada kedelai dengan kadar air yang lebih rendah dibandingkan dengan *R. oligosporus*. *A. oryzae* yang ditumbuhkan pada nasi mencapai pertumbuhan optimum pada kadar air awal fermentasi, yaitu kira-kira 35 persen (Shich dan Beuchat, 1982), sedang *R. oligosporus* tumbuh baik pada kadar air sekitar 40-50 persen (Shurtleff dan Aoyagi, 1979).

Pada pembuatan kecap tradisional dengan bahan dasar kedelai tanpa campuran biji-bijian lain sering terjadi kontaminasi berat oleh bakteri. Tingginya kadar air pada kedelai setelah direbus (57-58°C) serta sedikitnya komponen karbohidrat menstimulasi pertumbuhan *Bacillus*. Bakteri ini dapat menghasilkan bau yang khas dan lendir sehingga permukaan koji menjadi lengket. Kondisi yang demikian akan menyulitkan pertumbuhan jamur.

Di Jepang, koji pada pembuatan shoyu disiapkan dengan inokulum jamur *A. oryzae* dan *A. sojae*, dan bahan dasarnya tidak dari kedelai saja, tetapi campuran kedelai dengan gandum dengan perbandingan yang disesuaikan dengan jenis shoyu yang dihasilkan. Yokotsuka (1977) menyebutkan bahwa adanya gandum dapat menurunkan kandungan nitrogen bahan, namun demikian ada beberapa keuntungan yang diperoleh. Gandum dapat menurunkan kadar air kedelai yang telah direbus dari 60 % menjadi 45 % yang merupakan batas pertumbuhan bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri kontaminan dapat ditekan. Kadar air yang cukup rendah ini juga dapat meningkatkan pertumbuhan jamur dan produksi enzim. Gandum juga merupakan sumber karbohidrat yang akan didegradasi menjadi gula, alkohol dan asam organik pada produk akhir dan sumber prekursor flavor yaitu asam glutamat, yang keseluruhannya penting di dalam pembentukan flavor.

Poesponegoro (1977) menyebutkan bahwa adanya penambahan tepung terigu dan beras utuh pada fermentasi jamur

menggunakan *A. oryzae* menurunkan jumlah nitrogen terlarut dalam ekstrak, seperti terlihat dalam Tabel 1.5.

Tabel 1.5. Pengaruh penambahan tepung terigu dan beras utuh pada kedelai terhadap hidrolisis protein selama fermentasi jamur* dan fermentasi dalam larutan garam**

Keterangan	Kedelai ditambah 50 persen (b/b) dengan:		
	Tepung terigu	Beras utuh	Kontrol
N terlarut (%)*	0,83	1,43	1,08
Pelarutan N (%)**	54,89	58,73	62,53

Sumber : Poesponegoro (1977).

Selama fermentasi jamur nitrogen terlarut yang paling tinggi adalah pada fermentasi dengan penambahan beras utuh yaitu 1.43 % dan yang paling rendah adalah dengan penambahan tepung terigu. Lebih lanjut Poesponegoro menyebutkan bahwa fermentasi jamur pada kedelai tanpa campuran maupun kedelai dicampur beras utuh akan terjadi penetrasi sampai ke dalam biji, sedang pada kedelai yang dicampur dengan tepung terigu kemungkinan penetrasi miselia hanya terjadi pada tepung terigu yang menyelimuti kedelai sehingga menyebabkan nitrogen yang terlarut rendah. Di Jepang gandum yang ditambahkan tidak berupa tepung tetapi berupa biji yang diremukkan, sehingga tidak terjadi hambatan penetrasi miselia ke dalam biji kedelai dan nitrogen terlarut yang dihasilkan juga tinggi.

FERMENTASI KEDELAI DENGAN INOKULUM

Pada pembuatan kecap secara tradisional, khususnya pada fermentasi kedelai yang dilakukan secara spontan, ternyata menimbulkan berbagai masalah. Misalnya waktu fermentasi lebih lama, mudah terkontaminasi, kemungkinan timbul racun, juga rendahnya mutu kecap yang dihasilkan. Kontaminasi berat karena pertumbuhan bakteri di dalam fermentasi jamur tidak hanya menurunkan aktivitas proteolitik jamur tetapi juga menurunkan kualitas kecap.

Salah satu usaha untuk memproduksi kecap dengan kualitas yang tinggi adalah dengan menggunakan inokulum murni selama fermentasi kedelai. Karena keberhasilan proses hidrolisis sendiri merupakan faktor yang menentukan pada produk kecap yang dihasilkan sehingga beberapa faktor yang berpengaruh pada keberhasilan proses ini perlu ditunjang, misalnya penggunaan strain jamur yang unggul atau dengan pengaturan kondisi fermentasi yang optimum.

Sebetulnya hasrat untuk menerapkan penggunaan inokulum tampak sudah dilakukan oleh beberapa pengusaha kecap di Indonesia, meskipun inokulum yang dipakai tidak secara khusus dibuat. Adapun bentuk inokulumnya juga bervariasi, misalnya dengan menggunakan sebagian hasil fermentasi jamur yang masih aktif atau dengan menaburkan spora hasil fermentasi jamur yang telah dikeringkan. Dibandingkan dengan cara fermentasi spontan yang mengandalkan inokulasi alamiah, cara ini lebih menguntungkan, walaupun belum maksimal. Diantaranya proses fermentasinya menjadi lebih cepat, menghindari terbentuknya mikotoksin, mengurangi terjadinya kontaminasi dan tentu saja cara ini akan lebih baik apabila jamur yang digunakan sebagai inokulum mempunyai aktivitas proteolitik yang tinggi.

Di Jepang, fermentasi jamur pada pembuatan kecap tidak dilakukan secara spontan tetapi menggunakan inokulum jamur

A. oryzae atau *A. sojae*. Jamur *A. oryzae*, *A. sojae* dan *R. oligosporus* dikenal sebagai jamur yang sering digunakan dalam pembuatan kecap dikarenakan tiga jamur ini mempunyai aktivitas proteolitik dan amilolitik yang tinggi. Enzim lain yang diproduksi oleh jamur ini adalah lipase dan invertase. Wood dan Young (1975) menyebutkan bahwa *A. sojae* dan *A. oryzae* ternyata juga mampu memproduksi selulase.

Rahayu (1985), melaporkan perubahan nitrogen terlarut pada kedelai selama fermentasi jamur menggunakan isolat murni *A. sojae*, *A. oryzae* dan *R. oligosporus* dan secara spontan pada berbagai variasi pH, seperti pada Tabel 1.6.

Terlihat bahwa fermentasi kedelai menggunakan *A. sojae* dan *A. oryzae* pada berbagai variasi pH awal tidak memberikan perbedaan nitrogen terlarut, demikian pula fermentasi kedelai menggunakan *R. oligosporus* dan secara spontan ternyata tidak memberikan perbedaan nitrogen terlarut yang nyata.

Dari tabel ini juga terlihat bahwa selama fermentasi menggunakan *A. sojae* dan *A. oryzae* pada kedelai dengan berbagai variasi pH terjadi kenaikan nitrogen terlarut dari 0,48-0,53 % menjadi 1,91-2,37 % atau kira-kira 28-36 % dari senyawa protein kompleks yang terdapat pada kedelai dihidrolisis ke bentuk terlarut. Hasil ini ternyata lebih tinggi dibandingkan dengan kenaikan nitrogen terlarut pada fermentasi campuran kedelai dan gandum seperti dilaporkan oleh Yong (1971) dalam Wood dan Yong (1975) yang disajikan pada Tabel 1.2, yaitu dari 0,57 menjadi 1,58 %. Hal ini sesuai dengan yang disampaikan oleh Yokotsuka (1977) bahwa adanya gandum pada fermentasi kedelai dalam pembuatan koji menurunkan jumlah nitrogen terlarut pada akhir fermentasi, walaupun dengan penambahan gandum diperoleh beberapa keuntungan yang lain.

Pada fermentasi menggunakan *R. oligosporus* terjadi kenaikan nitrogen terlarut dari sekitar 0,48-0,53 menjadi 1,22-1,46 % atau kira-kira 18-22 % komponen protein

Tabel 1.6. Nitrogen total dan terlarut sebelum dan sesudah hidrolisis, persentase komponen N yang terhidrolisis dan berkurangnya N selama fermentasi pada kedelai

Perlakuan		Sebelum hidrolisis		Sesudah hidrolisis		% N yang terhidrolisis
		N total (%)	N terlarut (%)	N total (%)	N terlarut (%)	
<u>A. sojae</u>	5,0	6,48	0,48	6,39	1,92	29,63
dengan variasi	5,5	6,45	0,46	6,07	2,37	36,74
pH awal	6,0	6,64	0,52	5,89	2,06	31,02
	6,7	6,59	0,53	6,40	2,10	31,87
<u>A. oryzae</u>	5,0	6,48	0,48	6,35	2,12	32,72
dengan variasi	5,5	6,45	0,46	6,38	2,25	34,88
pH awal	6,0	6,64	0,52	5,91	1,91	28,76
	6,7	6,59	0,53	6,45	2,03	30,80
<u>R. oligosporus</u>	5,0	6,48	0,48	6,42	1,22	18,83
dengan variasi	5,5	6,45	0,46	6,06	1,41	21,86
pH awal	6,0	6,64	0,52	6,27	1,46	21,99
	6,7	6,59	0,53	5,95	1,38	20,94
Fermentasi se-	5,0	6,48	0,48	6,32	1,35	20,83
cara spontan	5,5	6,45	0,46	6,36	1,40	21,70
dengan variasi	6,0	6,64	0,52	6,01	1,47	22,14
pH awal	6,7	6,59	0,53	6,37	1,26	19,12
Hidrolisis kimia		6,91	1,07	-	4,19	60,49

kompleks dihidrolisis ke bentuk terlarut. Dibandingkan dengan yang ditulis oleh Shurtleff dan Aoyagi (1979) bahwa selama fermentasi kedelai oleh jamur *Rhizopus* dalam pembuatan tempe kenaikan nitrogen terlarut dari 0,5 menjadi 2,0 persen, maka hasil yang dilaporkan oleh Rahayu (1985) ternyata masih. Lebih lanjut Rahayu melaporkan bahwa kondisi kedelai yang tanpa dikupas kulit bijinya menyebabkan *R. oligosporus* tidak tumbuh dengan baik.

Fermentasi secara spontan pada kedelai ternyata hasilnya juga kurang memuaskan, selama fermentasi ini terjadi kenaikan nitrogen terlarut dari 0,48-0,53 menjadi sekitar 1,26-1,47 % atau kira-kira 19-23 % protein kedelai dirombak ke bentuk terlarut. Dibandingkan dengan fermentasi menggunakan inokulan *A. sojae* atau *A. oryzae* hasil ini memang sangat rendah. Ini mungkin karena pertumbuhan jamurnya lambat serta aktivitas proteolitiknya juga rendah.

Saat ini telah dikembangkan inokulum untuk pembuatan kecap oleh FNCC, PAU Pangan dan Gizi, UGM dengan cara sebagai berikut, isolat *A. oryzae* atau *A. sojae* ditumbuhkan pada nasi, setelah berspora lebat dikeringkan dan dihaluskan. Untuk tujuan komersial, spora ini bisa dicampur dengan tepung beras. Adapun cara menggunakan inokulum, atau sering pula disebut sebagai bibit adalah dengan menaburkan di atas kedelai rebus yang telah dingin.

WAKTU FERMENTASI JAMUR

Menentukan waktu fermentasi penting di dalam pembuatan koji. Fermentasi jamur yang berlangsung secara spontan waktu fermentasinya berlangsung selama 4-7 hari, bahkan kadang-kadang sampai 12 hari, namun pada penggunaan inokulum murni, proses fermentasi dapat diperpendek menjadi 3 hari.

Dengan menggunakan inokulan jamur *A. oryzae* atau *A. sojae* waktu fermentasi yang optimal kira-kira tiga hari. Dengan waktu yang terlalu pendek jamur belum tumbuh dengan baik dan produksi enzim sedikit. Sedang waktu fermentasi yang terlalu lama, jamur akan mulai berspora dan adanya spora ini tidak dikehendaki karena akan menyebabkan "mouldy off flavor" pada kecap. Amonia yang dihasilkan karena fermentasi lanjut juga berpengaruh pada flavor kecap (Wood dan Yong, 1977). Kerusakan lain yang mungkin timbul karena fermentasi yang terlalu lama yaitu timbulnya toksin. Yokotsuka (1971) menyebutkan bahwa 26 strain dari 68 *Aspergilli* yang banyak digunakan untuk industri makanan di Jepang menghasilkan sejenis mikotoksin yang disebut asam aspergilat dan ternyata mikotoksin ini dihasilkan setelah inkubasi empat sampai sepuluh hari. Oleh karena itu sebaiknya fermentasi kedelai oleh jamur dilakukan selama tiga hari. Pada fermentasi secara spontan, waktu fermentasinya lebih lama, kira-kira 4-7 hari, bahkan kadang-kadang sampai 12 hari, sehingga kemungkinan timbulnya mikotoksin lebih banyak terjadi.

Rahayu menyebutkan bahwa fermentasi kedelai menggunakan isolat *A. oryzae* dan *A. sojae* setelah fermentasi hari ke tiga tidak mengalami kenaikan nitrogen terlarut yang berarti.

Rahayu (1985) juga melaporkan jumlah unit pembentuk koloni ("colony forming units") setiap gram kedelai, yang disajikan pada Gambar 1.2. Pada perhitungan jamur menggunakan metoda "viable plate count" ini memang terdapat beberapa kelemahan, diantaranya sulit untuk menentukan koloni yang terbentuk berasal dari miselia jamur dengan ukuran yang sama. Potongan miselia jamur dengan ukuran kecil maupun besar ternyata sama-sama mampu membentuk satu koloni. Dan koloni yang terbentukpun sulit dipastikan berasal dari satu potong miselia atau lebih, atau dari satu spora atau lebih.

Dari Gambar terlihat bahwa jamur *A. sojae*, *A. oryzae*

maupun *R. oligosporus* mencapai fase pertumbuhan tetap ("stationary phase") setelah hari ke 2-3 fermentasi. Dari pengamatan visual fermentasi kedelai oleh kedua jamur ini, ternyata kedua jamur ini mulai tampak membuat spora setelah fermentasi hari ke 3, dan pada hari ke 4 spora yang dihasilkan cukup banyak sehingga menutupi seluruh permukaan kedelai. Kalau keadaan ini dihubungkan dengan aktivitas proteolitik maksimum dari *A. sojae* dan *A. oryzae* ternyata aktivitas maksimum dicapai setelah fase pertumbuhan tetap, hal ini sesuai dengan keterangan yang telah disampaikan oleh Volesky dan Luong (1985) bahwa produksi enzim serta aktivitasnya mencapai maksimum setelah fase tetap. Pada hari ke 4 jamur telah mengeluarkan spora dalam jumlah besar dan ternyata aktivitas proteolitiknya juga mulai konstan bahkan cenderung turun, ternyata pada saat berspora produksi enzimnya mulai berkurang. Hal yang sama juga telah disampaikan oleh Chey (1978) bahwa pada saat jamur berspora berarti enzim sudah seluruhnya dikeluarkan dari sel.

FERMENTASI DALAM LARUTAN GARAM

Fermentasi tahap kedua pada pembuatan kecap adalah fermentasi dalam larutan garam atau sering disebut sebagai moromi. Koji setelah dikeringkan dan dihilangkan sporanya dipindahkan ke vessel atau bak-bak yang sudah diberi larutan garam 22-25 % (b/v). Pada awal fermentasi ini masih terjadi perombakan oleh enzim-enzim yang telah dikeluarkan selama pembuatan koji walaupun jamurnya sendiri tidak berkembang. Protein dihidrolisis menjadi asam-asam amino dan pati dipecah menjadi gula sederhana yang selanjutnya difermentasi menjadi asam laktat, alkohol, dan karbon dioksida. pH moromi turun dari 6,5-7,0 menjadi 4,7-4,8.

Tingginya konsentrasi garam efektif di dalam menghambat mikrobia yang tidak dikehendaki, terutama bakteri pembusuk, sehingga diharapkan terjadi pertumbuhan bakteri dan khamir yang xerofil. Yokotsuka 1977, menyebutkan bahwa bakteri xerofil yang diharapkan tumbuh pada tahap awal fermentasi moromi shoyu adalah bakteri asam laktat, terutama *Pediococcus halophilus*, *P. cerevisiae* (*P. sojiae*) atau *Lactobacillus delbrueckii*. Bakteri asam laktat ini akan tumbuh pada awal fermentasi, memproduksi asam laktat dan menurunkan pH moromi. Salah satu faktor yang menguntungkan dari pertumbuhan bakteri ini adalah terbentuknya aroma dan flavor yang penting untuk shoyu. Pertumbuhan bakteri ini juga dapat mengurangi bau khas ("drug like smell") pada shoyu yang dibuat dari kultur murni *A. sojiae*. Turunnya pH fermentasi juga dapat menstimulasi pertumbuhan khamir yang xerotoleran yang penting di dalam flavor kecap. Pada media dengan garam 18 %, *Saccharomyces rouxii* hanya dapat tumbuh pada interval pH 4-5.

Rahayu dkk., 1987, menyebutkan bahwa bakteri yang terdapat pada moromi kecap berkisar antara 10^5 - 10^6 sel/ml dengan genus bakteri diantaranya *Bacillus*, *Pediococcus*, dan *Staphylococcus*. Khamir osmofilik *Zygosaccharomyces rouxii* yang penting di dalam pembentukan flavor ternyata sangat sulit diisolasi. Khamir yang berhasil diisolasi dari moromi adalah *Candida spp.*

Sulitnya khamir tumbuh pada moromi kecap diperkirakan karena beberapa faktor, antara lain, konsentrasi garam NaCl yang terlalu tinggi, pH moromi yang masih terlalu tinggi untuk pertumbuhannya (di atas pH 5.0), jumlah mikrobia kontaminan yang terlalu tinggi, sedikitnya sumber karbon.

Rahayu (belum dipublikasikan) melaporkan penggunaan bakteri asam laktat *P. halophilus* FNCC 0032 pada fermentasi awal moromi yang selanjutnya diikuti dengan inokulasi khamir *Z. rouxii* FNCC 3007. Pada moromi yang tidak diinokulasi

dengan bakteri asam laktat pH awal berkisar antara 5.5-6.0 dan setelah fermentasi selama dua bulan pH nya masih sekitar 5.0. Penurunan pH yang sangat lambat ini dikarenakan pertumbuhan bakteri asam laktat yang kurang baik. Sedang pada moromi yang diinokulasi dengan bakteri asam laktat, penurunan pH dari 5.5-6.0 menjadi sekitar 4.5 berlangsung selama satu bulan. Pada saat pH mencapai 4.0 - 5.0, *Z. rouxii* ditambahkan ke dalam moromi, namun hasil yang diperoleh sampai saat ini ternyata belum memuaskan. Khamir *Z. rouxii* ternyata belum dapat tumbuh dengan baik sehingga masih perlu dilakukan pengaturan kondisi fermentasi yang lebih baik.

TAHAP AKHIR PROSES PEMBUATAN KECAP

Tahap akhir proses pembuatan kecap adalah pengepresan dan penyaringan. Filtrat yang diperoleh dimasak dan ditambah bumbu-bumbu. Berbeda dengan shoyu yang flavornya hanya berasal dari proses fermentasi, flavor kecap berasal dari bumbu-bumbu yang ditambahkan, yang jumlah dan jenisnya tergantung dari selera masing-masing pabrik kecap. Proses pemasakan penting untuk: (1) ekstraksi komponen-komponen flavor yang berasal dari bumbu-bumbu; (2) meningkatkan kejernihan kecap yang dihasilkan, karena partikel-partikel yang terkoagulasi selama pemanasan dapat dipisahkan; (3) meningkatkan intensitas warna; (4) inaktivasi enzim; (5) sebagai proses sterilisasi kecap yang siap dibotolkan.

PENUTUP

Pembuatan kecap di Indonesia yang masih berlangsung secara tradisional, ternyata kurang menguntungkan, karena kualitas kecap yang dihasilkan tidak stabil.

Salah satu usaha yang dapat digunakan untuk memperbaiki kualitas kecap adalah dengan penggunaan inokulum murni, baik pada fermentasi kedelai (koji) maupun fermentasi dalam larutan garam.

Inokulum kecap yang disiapkan dari biakan murni *A. oryzae* dan *A. sojae* oleh FNCC, PAU Pangan dan Gizi, UGM, dapat diterapkan pada pabrik kecap yang beredar di Indonesia. Biakan murni yang lain, yaitu *P. halophilus* dan *S. rouxii* juga dapat digunakan di dalam fermentasi larutan garam.

DAFTAR PUSTAKA

Bhumiratana, A., Flegel, T. W., Glinsukon, T., dan Somporon, W. 1980. Isolation and analysis of molds from soy sauce koji in Thailand. *Applied and Environmental Microbiology*. 39 (2).

Carol-Shich, Y.S. dan Beuchat, L. R., 1982. Microbial changes in fermented peanut and soybean pastes containing kojis prepared using *Aspergillus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus*. *J. of Food Science*. 47.

Chey, T.T., 1978. Soy sauce fermentation : *Microbiology and Technological Development*. Singapore Institute of Standards and Industrial Research. Singapore.

Fukushima, D., 1981. *Soy proteins for Foods centering around soy sauce and tofu*. JAOCS. March.

Haurowitz, F., 1950. *Chemistry and biology of proteins*. Academic Press Inc., Publ. New York.

Judoamidjojo, M., 1986. *The studies on Kecap - Indigenous Seasoning of Indonesia*. The Tokyo University of Agriculture. Tokyo.

Kimmel, J.R., 1964. Some recent advances in techniques for protein degradation. Dalam *Symposium on foods : Protein and their reactions* (ed. H.W.Schultz dan A.F.Anglemier). The Avi Publ. Co. Inc. Westport.

Narahara, H., Koyama, H., Yoshida, T., Pichangkura, S., dan Taguchi, H., 1981. Growth and enzyme production in solid-state culture of *Aspergillus oryzae*. *Annual Report of ICME*. 4.

Poesponegoro, M. 1977. Pengaruh faktor-faktor tertentu dalam proses pembuatan kecap secara fermentasi. Dalam *Proceedings Seminar Teknologi Pangan III*. Balai Penelitian Kimia. Departemen Perindustrian.

Rahayu, E.S., 1985. Hidrolisis protein kedelai oleh *Aspergillus sojae*, *A. oryzae*, dan *Rhizopus oligosporus*. Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. (Thesis S-2).

Rahayu, E.S., Takada, N., dan Oshima, Y., 1986. Microflora in koji and moromi for kecap making. *Annual Report of ICBiotech.*, 9:173-188.

Shurtleff, W., dan Aoyagi, A., 1979. *The book of tempeh*. Harper and Row Publ. New York.

Slamet, D. S., Ganjar, I., dan Suryana. 1978. The nutrients and amino acid contents of kecap. Dalam *Kumpulan Makalah Seminar Mikrobiologi II* (ed. Basuki, T., Sukara, E., dan Brotonegoro, S) 1981. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.

Volesky, B., dan Luong, J. H. T., 1985. Microbial enzymes : Production, purification and isolation. *Critical Reviews in Biotechnology*. CRC Press 2 (2).

Wood, B. J. B., dan Yong, F. M., 1975. Oriental Food Fermentation. Dalam Smith, J. E. dan Berry, D. R., (Ed.). *The Filamentous Fungi*. Departement of Applied Microbiology, University of Yokotsuka, T. 1971. Shoyu. Central Research-Laboratories. Kikkoman Shoyu, Co. Ltd. Chiba-ken, Japan.

Yokotsuka, T., 1977. Japanese Shoyu : Koikuchi, Usukuchi and Tamari; Chinese Chiang-yiu. Dalam Steinkraus, K. H., (Ed.) 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcell Dekker, Inc. New York.

BAB II

TEMPE

PENDAHULUAN

Tempe adalah makanan hasil fermentasi kedele dan berwarna putih. Makanan ini sudah diproduksi sejak berabad-abad yang lalu dan dapat dijumpai di hampir semua daerah di Indonesia, terutama sekali di Jawa dan Bali. Meskipun demikian saat ini tempe sudah diproduksi secara komersial di negara lain seperti Malaysia, Singapura, Belanda, Inggris, Amerika Serikat dan Kanada.

Steinkraus, 1983 menyebutkan bahwa studi tentang tempe sudah dimulai sejak akhir abad 19 yang berupa usaha untuk mengidentifikasi jamur yang berperan dalam fermentasi tempe, perubahan biokimiawi yang terjadi selama fermentasi tempe dan masalah gizi tempe.

Di Indonesia tempe dikonsumsi oleh semua lapisan masyarakat. Pada tahun 1976 sekitar 75.000 ton kedele dibuat menjadi tempe, dan diperkirakan sekitar 10% penduduk mengkonsumsi tempe rata-rata 100 gram per hari per orang.

PROSES PEMBUATAN TEMPE

Pada dasarnya proses pembuatan tempe meliputi tahap-tahap berikut.

1. Pembersihan biji kedele
2. Perendaman

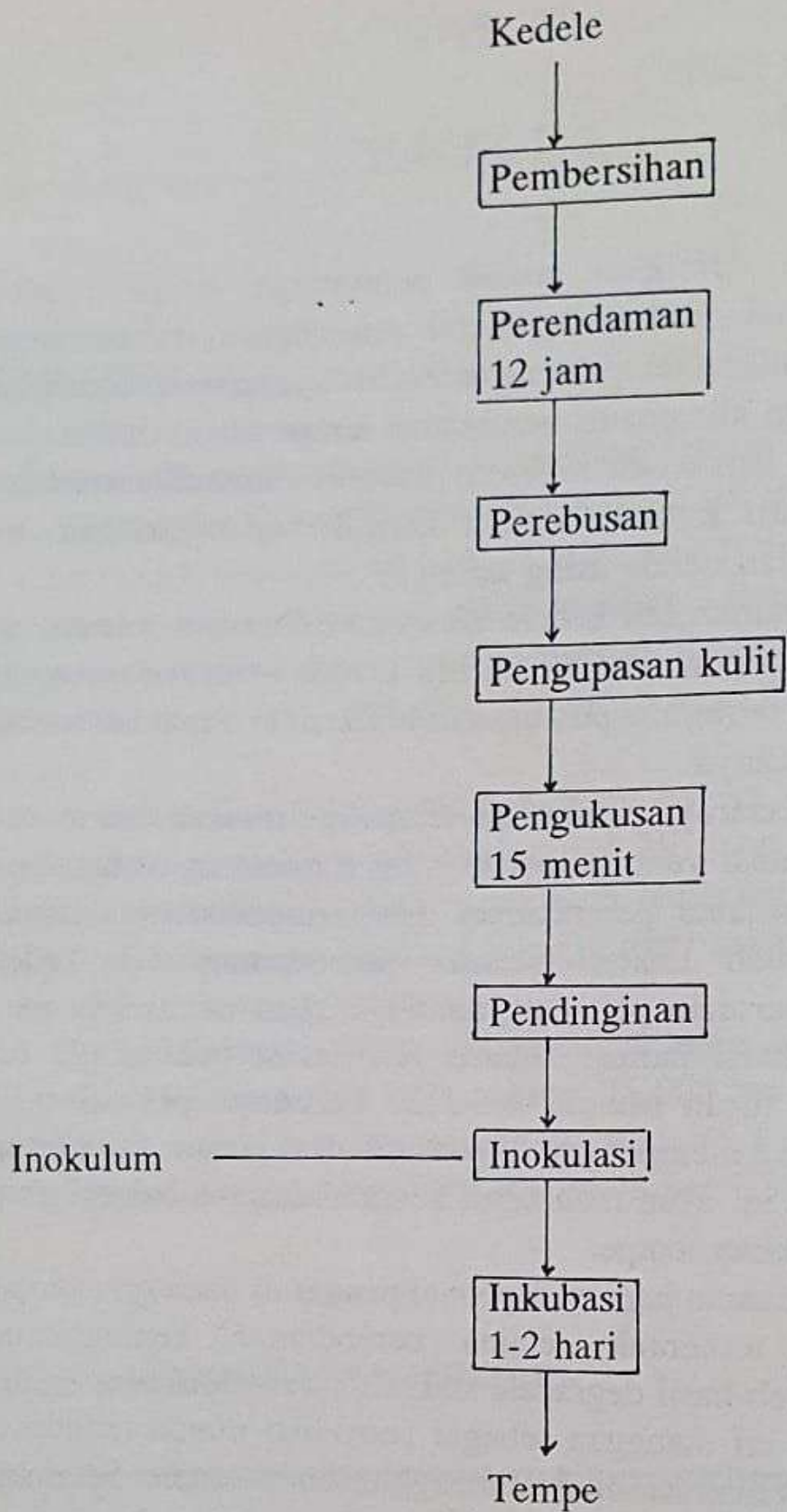
3. Perebusan
4. Pengupasan kulit
5. Pengukusan
6. Inokulasi
7. Inkubasi

Namun demikian proses pembuatan tempe tersebut sangat bervariasi untuk setiap daerah atau negara, dan semuanya dapat menghasilkan tempe dengan kualitas yang baik. Salah satu contoh diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 2.1. Biji kedele sebelum diproses menjadi tempe harus dibersihkan dari kotoran seperti kerikil, biji-bijian lain, biji kedele rusak dan benda asing lainnya.

Perendaman biji kedele biasanya dilakukan selama satu malam. Selama perendaman ini biji kedele akan menyerap air dan akibatnya berat maupun ukuran biji kedele dapat bertambah sampai dua kalinya.

Pada dasarnya pembuatan tempe melibatkan dua macam proses fermentasi yang berbeda, yaitu fermentasi oleh bakteri yang terjadi selama perendaman dan fermentasi oleh jamur. Fermentasi oleh bakteri selama perendaman biji kedele berakibat penurunan pH yang nantinya akan membantu pada proses fermentasi jamur. Selama fermentasi bakteri pH biji kedele dapat turun sampai 4,5-5,3. Turunnya pH ini tidak secara langsung mempengaruhi pertumbuhan jamur, akan tetapi suasana asam ini akan mencegah berkembangnya bakteri yang dapat merusakkan tempe.

Perendaman juga mempunyai pengaruh pada gizi tempe. Asam yang terbentuk selama perendaman kemungkinan disebabkan oleh hasil degradasi stakhiosa dan raffinosa. Kedua oligosakarida ini dianggap sebagai penyebab utama terjadinya flatulensi pada manusia apabila mengkonsumsi kedele. Selain itu selama perendaman juga akan terjadi penurunan kandungan senyawa-senyawa yang bersifat menghambat pertumbuhan jamur tempe. Senyawa penghambat tersebut bersifat tahan panas dan



Gambar 2.1. Diagram alir proses pembuatan tempe

larut dalam air. Selama perendaman senyawa-senyawa tersebut akan larut dalam air rendaman.

Jamur tempe hanya dapat tumbuh pada kedele apabila kedele telah dikupas kulitnya dan dihidrasi. Pengupasan kulit dapat dilakukan pada saat biji kedele masih kering ataupun setelah kedele direndam.

Pengupasan kering dilakukan sebelum biji kedele direndam. Apabila tersedia alat pengupas kulit mekanis, cara ini lebih baik dan lebih efisien. Sebelum dilakukan pengupasan biasanya biji kedele dipanaskan dengan udara panas yang bersuhu 104°C selama 10 menit atau dijemur selama 1-2 hari. Hal ini dimaksudkan agar kotiledon menjadi mengkerut dan akan membantu dalam proses pengupasan kulit. Pengupasan kulit secara mekanis dapat dilakukan dengan melewati biji kedele melalui dua buah roll (umumnya dari batu) yang berputar. Apabila biji kedele telah disortasi menurut ukurannya dan jarak roll dapat diatur maka dapat diperoleh biji kedele terkupas dan kotiledonnya masih utuh. Akan tetapi apabila ukuran biji tidak seragam maka biji yang kecil akan lolos tanpa terkupas dan biji yang besar akan pecah. Kulit biji dapat dipisahkan dari kotiledonnya dengan menggunakan aspirator ataupun dengan hembusan angin. Biji yang sudah terkupas ini dapat disimpan menunggu saat dibuat tempe.

Pengupasan basah selalu dilakukan setelah tahap perendaman. Pengupasan kulit secara basah dapat dilakukan hanya dengan bantuan kedua tangan atau kaki. Kulit biji dapat dipisahkan dari kotiledonnya dengan menghanyutkannya bersama air. Peralatan mekanis seperti yang dipakai untuk pengupasan kering juga dapat digunakan untuk keperluan ini.

Sebelum biji kedele diinokulasi dengan jamur tempe biasanya dilakukan pemanasan. Tahap ini bertujuan untuk membunuh mikrobia kontaminan yang nantinya dapat mengganggu proses fermentasi jamur. Tahap pemanasan juga berguna untuk merusak senyawa anti gizi seperti inhibitor

tripsin dan untuk membebaskan beberapa nutrien yang diperlukan untuk pertumbuhan jamur.

Biji kedele sebaiknya didinginkan sampai suhu 37°C dan dikeringkan sedikit sebelum diinokulasi dengan jamur tempe. Suhu yang tinggi pada saat inokulasi dapat mengganggu inokulum yang ditambahkan. Kandungan air yang berlebihan pada biji kedele dapat merangsang pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan selama atau sesudah fermentasi jamur.

Inokulum yang dipakai dalam proses pembuatan tempe dapat diperoleh dari berbagai sumber, antara lain:

1. Tempe yang sudah mengalami sporulasi
2. Tepung tempe yang dikeringkan
3. Usar, yaitu jamur tempe yang ditumbuhkan pada daun waru (*Hibiscus tiliaceus*).
4. *Rhizopus oligosporus* FNCC 6010, yang dapat diperoleh dalam agar miring dari Food and Nutrition Culture Collection, PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Utara, Yogyakarta 55281, Tel. (0274) 3582.
5. Inokulum tempe yang diproduksi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, yang dapat diperoleh di banyak penyalur di seluruh Indonesia.

MIKROBIOLOGI FERMENTASI TEMPE

Jamur yang berperan penting dalam fermentasi tempe ada beberapa yang umumnya termasuk dalam genus *Rhizopus*. Beberapa spesies jamur tersebut adalah *R. oligosporus*, *R. oryzae*, *R. stolonifer* dan *R. arrhius*. Jamur-jamur tersebut berperan dalam mengikat biji-biji kedele menjadi suatu massa yang kompak.

PERUBAHAN BIOKIMIAWI SELAMA FERMENTASI TEMPE

Selama fermentasi tempe terjadi banyak perubahan dalam biji kedele. Akibat adanya degradasi beberapa polimer mengakibatkan naiknya kandungan bahan padat terlarut. Setelah fermentasi selama 72 jam kadar bahan padat terlarut naik dari 13% menjadi 28%.

Kadar Nitrogen total relatif konstan selama fermentasi, tetapi kadar Nitrogen terlarutnya naik dari 0,5% menjadi 2,5%. Kandungan beberapa asam amino mengalami kenaikan dan beberapa yang lain mengalami penurunan. Lisin dan metionin turun sampai 25% dan 10% setelah fermentasi selama 60 jam (Steinkraus *et al.*, 1960). Sedangkan kandungan triptofan dan alanin naik sebesar 20%. Asam amino bebas naik selama fermentasi (Murata *et al.*, 1967). Peristiwa deaminasi senyawa protein dapat mengakibatkan naiknya pH. Selama fermentasi jamur pH dapat naik dari 5 menjadi di atas 7. Adanya ammoniak bebas juga dapat dideteksi pada hasil fermentasi yang sudah lanjut.

Kandungan gula dalam biji kedele terutama adalah sukrosa, stakhiosa dan raffinosa. Hidrolisa stakhiosa berjalan lambat, akan tetapi kandungan heksosa mengalami penurunan secara cepat.

Asam lemak dalam biji kedele terutama adalah asam linolenat. Disamping itu juga terdapat asam palmitat, asam stearat, dan asam oleat. Asam-asam lemak tersebut akan dibebaskan selama fermentasi. Jamur yang berperan dalam fermentasi tempe mempunyai aktivitas lipolitik yang kuat dan dapat menghidrolisa lebih dari sepertiga lemak netral yang ada dalam biji kedele setelah fermentasi selama 72 jam pada suhu 37°C. Angka asam biji kedele yang sudah dimasak sekitar 1,7 dan setelah difermentasi selama 48 jam dapat naik sampai 55,6 (Murata *et al.*, 1967).

DAFTAR PUSTAKA

Murata, K., Ikehata, H., and Miyamoto, T, 1967. Studies on the nutritional value of tempe. *J. Food Sci.* 32:580-586.

Steinkraus, K. H., 1983. *Handbook of Indigenous fermented foods*, Marcell Dekker, Inc. New York.

BAB III

ANGKAK

PENDAHULUAN

Warna merupakan salah satu faktor yang penting dalam produk-produk makanan. Hal ini dikarenakan dalam memilih makanan konsumen juga mempertimbangkan penampilan yang menarik, disamping faktor lain seperti: rasa, kesegaran, nilai gizi, kebersihan dan harga. Untuk menghasilkan produk makanan yang menarik, industri makanan banyak menggunakan zat warna baik alami maupun sintetis. Zat warna sintetis lebih banyak digunakan karena lebih murah, mudah didapat, beraneka ragam, bersifat stabil dan tahan lama. Namun dewasa ini keamanan penggunaan pewarna sintetis mulai dipertanyakan. Hal ini disebabkan adanya laporan yang menunjukkan bahwa beberapa zat warna sintetis berbahaya bagi kesehatan. Untuk mengatasi masalah tersebut maka perlu dicari alternatif bagi penggunaan zat warna alami yang aman bagi manusia.

Zat warna sebenarnya dapat diperoleh secara alami dari pigmen yang dihasilkan oleh berbagai jenis tanaman (misalnya: kunyit, daun katuk, wortel, pacar cina, coklat, dll); hewan (heme, bilirubin, dll), dan mikroorganisme (*Monascus*, *Monilia*, dll). Dari ketiga sumber tersebut, penggunaan mikroorganisme sebagai penghasil pigmen menarik untuk dikaji karena dapat ditumbuhkan dalam waktu yang relatif singkat, tidak memerlukan tempat yang luas, zat warna dapat diproduksi dalam jumlah besar dan prosesnya dapat dikontrol. Salah satu mikroorganisme penghasil pigmen yang potensial adalah jamur

Monascus purpureus yang telah lama digunakan untuk menghasilkan angkak.

DESKRIPSI

Angkak adalah hasil fermentasi beras menggunakan jamur *Monascus purpureus* yang menghasilkan pigmen merah dan kuning.

Pigmen yang dihasilkan dapat dilarutkan dalam air, etanol atau metanol dan mempunyai kestabilan yang tinggi, mudah dicerna dan tidak beracun (Su dan Wang, 1977 dalam Steinkraus, 1983). Produk ini biasa digunakan sebagai bahan pewarna pada ikan, "rice wine", keju dari kedelai, pickle dan daging asin (Steinkraus, 1983). Angkak dikenal juga dengan nama anka, red rice, Chinese red rice, ankak, angquac, beni-koji dan aga-koji. Pigmen yang dikandung mempunyai kelarutan dan kestabilan yang tinggi, mudah dicerna dan tidak beracun. Produk ini mula-mula berasal dari Cina, kemudian disebar luaskan oleh para pembuat "rice-wine" ke Taiwan. Beberapa negara kemudian mulai mengembangkan penggunaan angkak sebagai bahan pewarna makanan. Negara-negara yang diketahui menggunakan angkak antara lain: Cina, Taiwan, Pilipina, Thailand dan Indonesia.

Keuntungan penggunaan angkak adalah bahan dasarnya mudah diperoleh, warna yang dihasilkan konsisten dan relatif stabil, zat warnanya dapat dilarutkan dalam air, warna yang dihasilkan dapat tercampur dengan pigmen lain dan bahan-bahan makanan, dan aman (Steinkraus, 1983).

Berdasarkan resep-resep obat dari Cina, angkak disebutkan dapat digunakan juga untuk menyembuhkan penyakit asma dan kelainan urinasi (Steinkraus, 1983). Dengan adanya keunggulan-keunggulan tersebut maka angkak merupakan

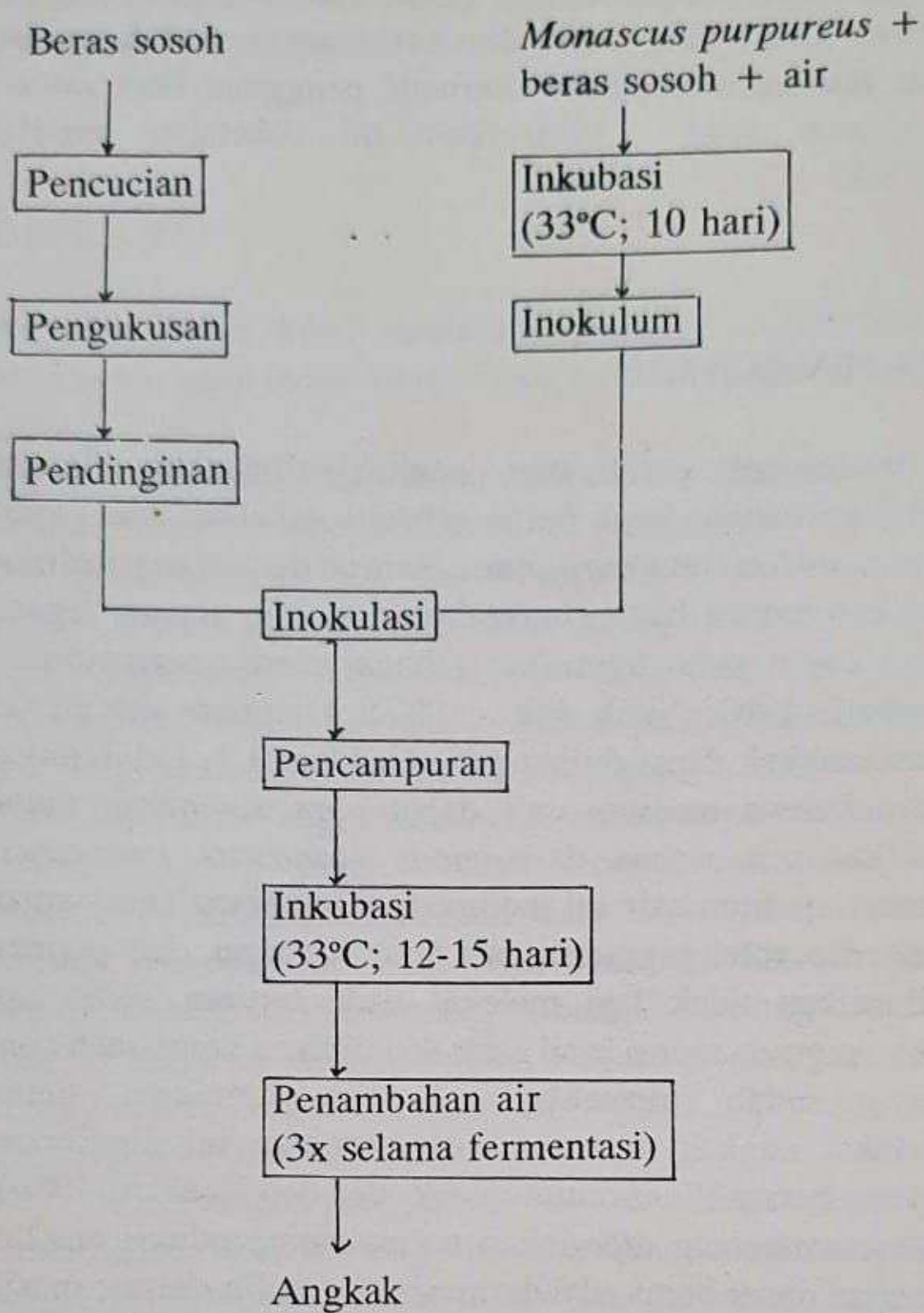
produk fermentasi yang potensial untuk dikembangkan sebagai zat pewarna alami yang dapat digunakan pada produk-produk makanan. Hal ini merupakan alternatif pengganti bagi zat-zat warna sintetis yang akhir-akhir ini diketahui bersifat karsinogenik.

PROSES PEMBUATAN

Secara traditional pembuatan angkak dilakukan dengan menggunakan bahan dasar beras sebagai substrat atau media tumbuh jamur *Monascus purpureus*. Namun demikian penelitian menunjukkan bahwa bahan berkarbohidrat lain seperti jagung dan cantel dapat pula digunakan sebagai media pertumbuhan (Kusumawati, 1987; Sidik dkk., 1987). Diagram alir proses pembuatan angkak dapat dilihat pada Gambar 3.1. Lebih lanjut dilaporkan bahwa medium cair dapat juga digunakan untuk menghasilkan zat warna dari jamur *Monascus purpureus*. Penggunaan medium cair ini mempunyai beberapa keuntungan yaitu dapat diperoleh pigmen secara besar-besaran, dan pigmen yang dihasilkan tidak lagi melekat pada butiran beras tapi merupakan pigmen murni hasil ekstraksi dimana komponen non-pigmennya sudah dipisahkan. Namun demikian untuk memproduksi angkak secara kultur terendam ini diperlukan kondisi yang benar-benar optimum (Broder dan Koehler, 1980).

Peralatan yang diperlukan untuk memproduksi angkak dengan bahan dasar beras adalah: mesin penggiling beras; mesin pencuci beras; alat pengukus; alat pendingin; ruang inkubasi; rak-rak fermentasi (bisa terbuat dari bambu atau jala nilon); penyemprot air (water sprayer); dan alat pengering (Steinkraus, 1983).

Berbagai macam bahan dasar telah dicoba oleh beberapa peneliti. Sebagai contoh, dari bermacam-macam varietas beras

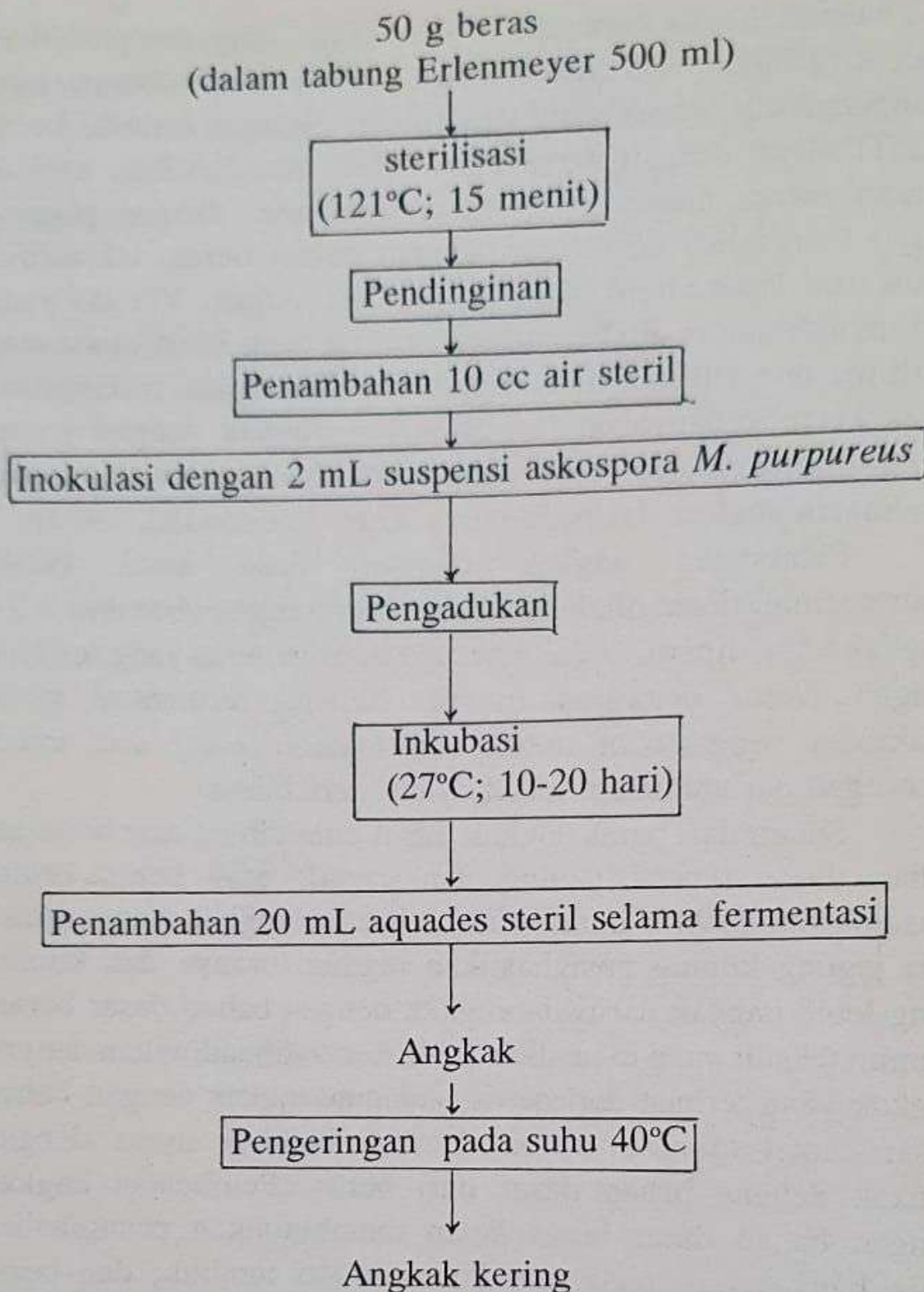


Gambar 3.1. Diagram alir pembuatan angkak
(Sumber: Steinkraus, 1983)

di Thailand hanya beberapa macam saja yang menghasilkan angkak dengan baik (Steinkraus, 1983). Jenis beras juga mempengaruhi warna yang dihasilkan. Sebagai contoh, beras dari Thailand dengan nama Khao Mali menghasilkan angkak dengan warna merah gelap keungu-unguan, dengan pigmen merah menembus ke seluruh bagian dalam beras, teksturnya lunak dan dapat diremahkan dengan jari tangan. Varietas yang lain menghasilkan angkak dengan warna yang lebih muda atau lebih tua tetapi teksturnya lebih keras. Sedangkan penggunaan beras ketan kebanyakan menghasilkan angkak dengan warna merah-oranye. Beras yang lunak lebih cocok digunakan untuk pembuatan angkak daripada beras ketan (Steinkraus, 1983).

Pembuatan angkak dengan skala kecil (skala laboratorium) dapat dilakukan dalam erlenmeyer (Gambar 3.2). Angkak yang diperoleh yaitu berupa butiran beras yang tertutup dengan jamur berwarna merah. Selama fermentasi perlu dilakukan pengadukan untuk aerasi bagi jamur dan untuk mencegah pertumbuhan miselia yang berlebihan.

Selain dari beras angkak dapat pula dibuat dari berbagai bahan dasar seperti jagung dan cantel, atau beras ketan. Kusumawati (1987) menyebutkan bahwa angkak yang dibuat dari jagung kuning menghasilkan pigmen oranye dan kuning yang lebih banyak daripada angkak dengan bahan dasar beras. Namun tekstur yang dihasilkan lebih keras dibandingkan dengan angkak yang terbuat dari beras. Adapun angkak dengan bahan dasar cantel (*Sorgum vulgare*) tidak berbeda nyata dengan angkak dengan bahan dasar dari beras. Pembuatan angkak dengan bahan dasar beras ketan membutuhkan penambahan lebih banyak air pada saat jamur mulai tumbuh, dan beras ketan mulai kering. Air ditambahkan untuk mempertahankan supaya kondisi tetap lembab, sampai bagian dalam beras ketan berwarna merah seluruhnya. Pada beras ketan, pertumbuhan jamur dapat diamati pada hari ke empat, namun penambahan air baru dilakukan pada hari keenam. Hal ini dilakukan agar



Gambar 3.2. Digram alir pembuatan angkak dalam skala laboratorium (Sumber: Steinkraus, 1983)

pigmen merah dapat masuk ke bagian dalam beras hingga fermentasi selesai. Jika air ditambahkan pada hari keempat yaitu pada saat warna merah pertama kali tampak, produk akhir tidak berwarna merah-keunguan melainkan berwarna merah-oranye (Sooksan dan Gongsakdi, 1977 dalam Steinkraus, 1983).

Penambahan air sebanyak 25% dari jumlah beras menghasilkan pigmen yang lebih bagus dibandingkan penambahan air sebanyak 30% (Palo, 1920 dalam Steinkraus, 1983). Suhu optimum untuk produksi pigmen adalah 27°C dengan kisaran 20-37°C. Pigmen terbentuk pada kisaran pH 3-7,5.

Salah satu jenis angkak di Taiwan disebut "chu kong tsaw". Produk ini mengandung jamur *M. anka* dan khamir *Saccharomyces formosensis* keduanya ditumbuhkan dalam beras ketan dan "rice wine". Kemudian diinkubasi selama 12-15 hari pada suhu 33°C, dan digiling untuk membuat suatu produk yang disebut "chu cong" (Steinkraus, 1983).

MIKROBIOLOGI

Mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi angkak adalah *Monascus purpureus*. Ada beberapa strain yang diketahui mampu memproduksi pigmen merah, misalnya: *M. purpureus* Went, *M. purpureus* NRRL 2897, *M. anka* Nakazawa, dan *M. anka* Sato (Hesseltine, 1965; Broder dan Koehler, 1980; Steinkraus, 1983).

Monascus purpureus termasuk dalam genus *Monascus* dan dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Amastigomycotina
Subdivisi	: Ascomycotina
Klas	: Ascomycetes
Subklas	: Plectomycetidae

Ordo : Eurotiales
Famili : Monascaceae
Genus : Monascus

Monascus sp. dapat berkembang biak dengan cara aseksual dengan membentuk konidiospora. Tetapi berdasarkan penelitian, pembentukan pigmen lebih besar pada *Monascus* sp. yang berkembang biak secara seksual daripada yang berkembang biak secara aseksual atau secara vegetatif (Su, 1980).

Salah satu fenomena yang unik dari jamur *M. purpureus* adalah kemampuan untuk menghasilkan cairan granular melalui ujung hifa. Pada saat jamur masih muda, cairan yang dikeluarkan tidak berwarna tetapi cairan tersebut secara perlahan-lahan berubah menjadi merah-kekuningan atau merah-oranye (Steinkraus, 1983). Produksi pigmen merah tersebut tidak hanya terdapat pada cairan yang dikeluarkan tetapi juga pada bagian dalam hifa. Warna merah tersebut mampu mendifusi ke dalam substrat. Warna merah tersebut terdiri dari dua macam pigmen, yang merah yaitu monascorubrin ($C_{22}H_{24}O_5$) dan kuning yaitu monascoflavin ($C_{17}H_{22}O_4$) (Hesseltine, 1965).

ASPEK BIOKIMIWI

Di dalam fermentasi beras dengan *Monascus* terdapat dua aktifitas utama yaitu sakarifikasi dan proteolitik yang dilakukan oleh enzim amilase dan protease. Disamping itu, didalam angkak juga ditemukan enzim-enzim maltase, invertase, lipase, α -glukosidase, oksidase, dan ribonuklease (Steinkraus, 1983). Pigmen yang disekresi oleh *Monascus* sp. meliputi: rubropunctatin dan monascorubrin (pigmen merah), monascin dan ankaflavin (pigmen kuning); dan rubropunctatin dan

monascorubramin (pigmen ungu). Selain itu *Monascus* juga menghasilkan etanol dan asam-asam organik pada media tertentu (Steinkraus, 1983). Analisa kimia menunjukkan angkak mengandung (%): 7-10 air; 53-60 pati; 2,4-2,6 nitrogen; 15-16 protein kasar; 6-7% lemak; dan 0,9-1,0 abu (Su dan Wang, 1977 dalam Steinkraus, 1983).

ASPEK KEAMANAN

Penelitian tentang aspek keamanan penggunaan angkak telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Konsumsi maksimum angka (18 g/kg berat badan) yang digunakan untuk pakan tikus percobaan tidak menyebabkan kematian tikus, dan tidak tampak adanya gejala-gejala keracunan saat dilakukan pengujian terhadap kecepatan pertumbuhan, efisiensi protein, protein hati/DNA, dan RNA/DNA. LD₅₀ yang dilakukan dengan injeksi peritoneal adalah 7 g/kg.

Lebih lanjut Kanoni dan Astuti (1988) meneliti pengaruh angkak terhadap histologi hati dan ginjal tikus. Percobaan dilakukan selama 75 hari. Tikus diberi makanan standard dan diberi minum sirup angkak dengan konsentrasi zat warna 0,4; 0,6; 0,8% secara paksa (force feeding). Hasilnya menunjukkan tidak ada perbedaan toksisitas yang nyata terhadap hati dan ginjal dari tikus. Tidak ada tanda-tanda kelainan jaringan hati dan ginjal pada tikus yang diberi minum sirup dengan angkak. Selama perlakuan pertambahan berat dan konsumsi makanan tikus sesuai dengan umurnya.

PRODUKSI DAN APLIKASI

Angkak telah lama digunakan di Cina, Taiwan, Pilipina, Thailand, dan Indonesia dan berbagai negara-negara Asia lainnya. Produksi angkak di Taiwan mencapai 200 ton pertahun (Steinkraus, 1983). Konsumsi rata-rata tiap orang kurang-lebih 12 g pertahun (Su dan Wang, 1977 dalam Steinkraus, 1983). Produk ini dijual dipasaran sebagai bahan pewarna dan penambah aroma makanan. Seperti telah diuraikan diatas, mula-mula angkak digunakan sebagai pewarna pada ikan, "rice wine", keju kedelai merah, pickle dan daging asin. Di Indonesia angkak berpotensi untuk digunakan sebagai pewarna makanan khas Indonesia. Paramawati (1981) menyebutkan bahwa angkak mampu memberi warna merah pada produk-produk kerupuk, kue lapis dan sirup tanpa mempengaruhi flavor bahan pangan tersebut.

Dengan semakin banyaknya penelitian tentang keamanan pangan, maka potensi angkak untuk digunakan sebagai alternatif pengganti bahan pewarna makanan sintetis semakin tinggi. Namun perlu dilakukan penelitian mengenai produksinya secara besar-besaran yang efektif dan efisien sehingga dapat dihasilkan zat warna alami yang murah dan aman bagi kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

Broder, C. U., dan Koehler, P. E., 1980. Pigments by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity. *J. Food sci.* (45):567-569.

Hesseltine, C. W., 1965. A millennium of fungi, food and fermentation. *Mycologia* (57): 179-181.

Kusumawati, E., 1987. Pembuatan "ang-kak" dengan jagung sebagai bahan dasar. Skripsi S1. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Kanoni, S., dan Astuti, M., 1988. Kajian tentang keamanan zat warna dari *Monascus purpureus*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Steinkraus, H., 1983. *Indigenous fermented food*. Marcel Dekker, New York.

BAB IV

YOGURT

PENDAHULUAN

Yogurt merupakan salah satu produk makanan dari susu yang telah mengalami proses fermentasi oleh bakteri asam laktat. Yogurt mempunyai kandungan asam yang cukup tinggi, sedikit atau tidak mengandung alkohol, memiliki tekstur semi padat, halus, kompak dengan rasa asam yang menyegarkan.

Susu merupakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena disamping mudah dicerna susu banyak mengandung zat-zat yang diperlukan oleh tubuh. Namun susu juga merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme sehingga susu mudah rusak. Untuk menghambat kerusakan oleh mikroorganisme susu sering disimpan pada suhu rendah sebelum dikonsumsi atau diolah lebih lanjut. Berbagai proses pengolahan susu telah dilakukan untuk lebih meningkatkan manfaat susu.

Sebelum ada 'refrigerator', ditemukan bahwa produk makanan dari susu dapat diawetkan dengan jalan memfermentasikan susu menjadi yogurt. Daerah asal yoghurt tidak begitu jelas. Menurut beberapa sumber yogurt berasal dari Asia dimana bangsa Turki kuno hidup sebagai nomaden (Wood, 1985). Beberapa berpendapat bahwa yogurt berasal dari daerah Balkan, dan diperkenalkan ke Eropa pada abad 18 dari daerah sekitar Turki. Pada waktu itu kaum nomaden yang sedang melakukan perjalanan di padang pasir mendapatkan bahwa susu yang disimpan di dalam kantong kulit dibagian belakang kuda atau untanya berubah menjadi bentuk semi padat dengan rasa dan aroma yang spesifik, lebih tahan lama dan tidak busuk

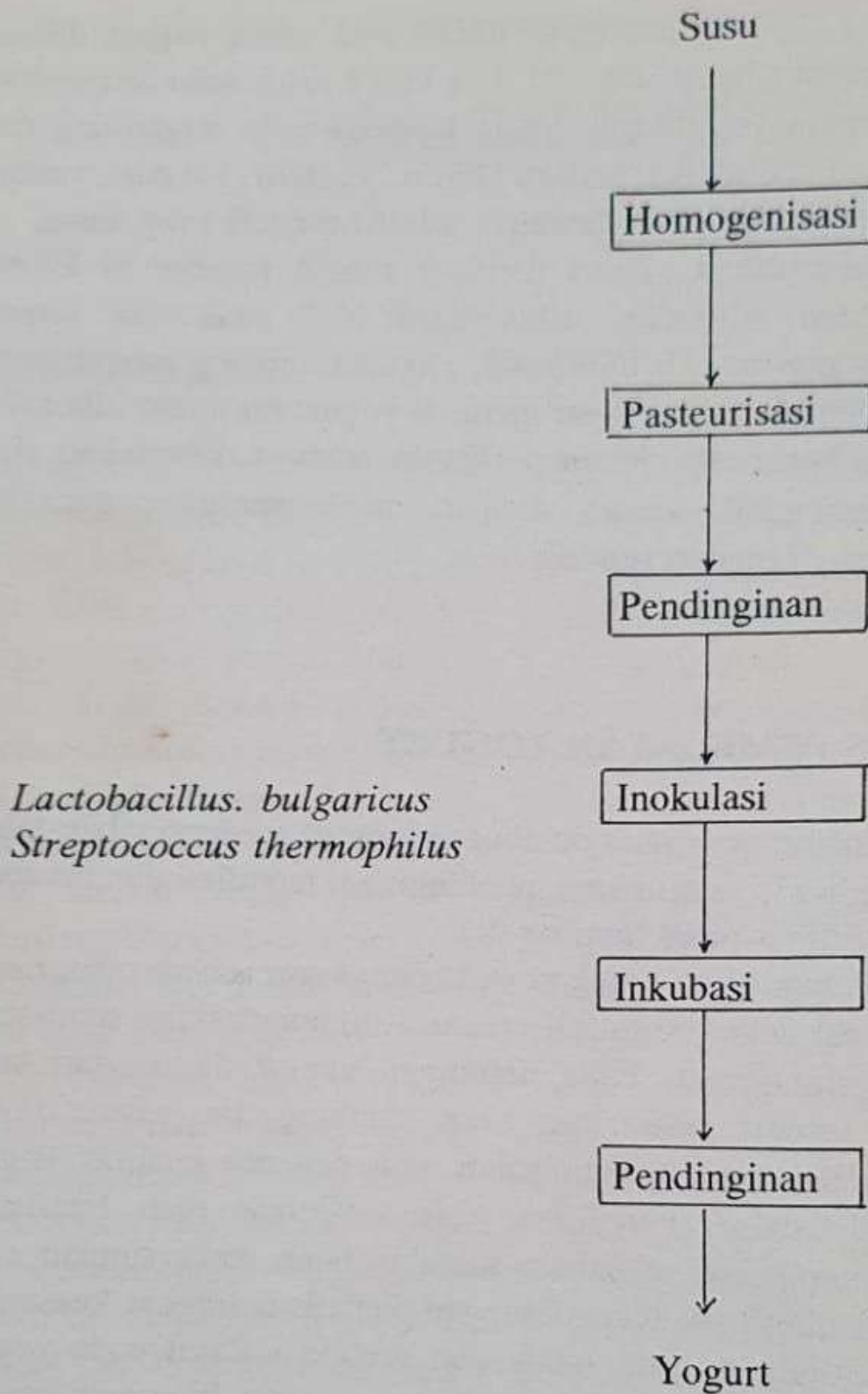
(Mitsuoka, 1989). Mungkin inilah asal mula yogurt dibuat. Istilah yogurt (jugert) berasal dari Turki untuk susu fermentasi. Sedang nama yogurt diucapkan berbeda-beda tergantung dari negara atau daerahnya, seperti yogurt, yoghurt, yahourt, yaourt, dan jugurt, tetapi pada dasarnya adalah produk yang sama.

Selanjutnya yogurt menjadi sangat populer di Eropa, Canada dan Amerika, dikonsumsi oleh anak-anak sampai dengan orang tua. Di Indonesia, yogurt tergolong produk baru. Namun bentuk olahan susu menjadi yogurt ini mulai dikenal di kota-kota besar dan dalam perkembangannya diharapkan akan terus meningkat sejalan dengan meningkatnya penerimaan konsumen terhadap produk susu.

PROSES PEMBUATAN YOGURT

Pada prinsipnya, proses pembuatan yogurt meliputi tahap-tahap homogenisasi, pasteurisasi, pendinginan, inokulasi dan inkubasi seperti terlihat pada Gambar 4.1.

Bahan dasar untuk pembuatan yogurt adalah susu; dapat berupa susu segar, susu full-cream, susu bubuk skim, semi-skim atau kombinasinya. Pada umumnya yogurt dibuat dari susu hewan, seperti susu sapi, susu kambing dan susu domba. Kualitas susu merupakan salah satu penentu kualitas yogurt yang dihasilkan. Penelitian yang dilakukan oleh Nasirudin (1989) menunjukkan bahwa semakin lama umur simpan susu akan memberikan kecenderungan kenaikan tingkat keasaman serta kandungan asam laktat dan protein terlarut pada yogurt yang dihasilkan. Dalam pembuatan yogurt, biasanya jumlah bahan padat bukan lemak dalam susu perlu ditingkatkan agar yogurt yang dihasilkan memiliki tekstur semi padat dan keasaman yang cukup. Hal ini dapat dicapai antara lain dengan menguapkan kandungan airnya 15-20 % yang setara dengan



Gambar 4.1. Diagram alir proses pembuatan yogurt

kenaikan 1.5-2.5 % kandungan bahan padat bukan lemak (Bottazzi, 1985). Sedang dalam industri yogurt, biasanya dilakukan juga penambahan susu bubuk skim.

Susu maupun kombinasi susu dengan skim di homogenisasi, dengan maksud untuk mencegah timbulnya lapisan lemak pada permukaan yogurt serta untuk mendapatkan produk yogurt dengan tekstur yang lembut. Dalam proses homogenisasi ini globula-globula lemak akan pecah menjadi partikel yang berukuran kecil dan seragam. Disamping itu homogenisasi juga penting, terutama bila pada bahan dasarnya ditambahkan susu bubuk, yaitu untuk meratakan campuran.

Setelah homogenisasi, kemudian dilakukan pasteurisasi yaitu dengan jalam memanaskan susu pada suhu 85°C selama 30 menit atau 90°C selama 5-10 menit. Pasteurisasi dimaksudkan untuk merusak sejumlah bakteri patogen dan mikroorganisme nonspora lain yang tidak dikehendaki, meningkatkan nutrisi substrat bagi pertumbuhan bakteri asam laktat, serta meningkatkan konsistensi produk, dan mengurangi pemisahan whey (Bottazzi, 1985).

Kemudian susu didinginkan sampai 42-45°C untuk mendapatkan kondisi yang cocok bagi pertumbuhan bakteri asam laktat yaitu *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*.

Inokulasi dilakukan pada suhu pertumbuhan yang optimum bagi kedua mikroorganisme tersebut. Inokulum yang digunakan adalah campuran 2-2,5 % kultur bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*. Perbandingan ideal kedua bakteri adalah 1:1, dengan alasan perbandingan ini memberikan rasa dan aroma yogurt yang baik (Vedamuthue, 1982; Reed, 1983).

Susu yang telah diinokulasi dengan kultur bakteri asam laktat tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 42-45°C selama 3-5 jam. Waktu dan suhu fermentasi ini merupakan salah satu tahap yang penting dalam pembuatan yogurt. Inkubasi ini dimaksudkan untuk memberi kesempatan pada mikroorganisme

untuk membentuk asam laktat sehingga terjadi penurunan pH sampai 4,4-4,5, protein menggumpal dan terbentuk yogurt yang dikehendaki. Yogurt yang dihasilkan disebut *plain yogurt* atau *natural yogurt* karena tidak ditambahkan bahan lain selain susu. Dalam pemilihan suhu inkubasi perlu diingat bahwa suhu pertumbuhan optimum tidak selalu sama dengan suhu optimum bagi produksi metabolit.

Yogurt yang telah dihasilkan harus segera didinginkan pada suhu 4°C untuk menurunkan aktivitas metabolisme bakteri asam laktat yang bekerja selama proses fermentasi dan mengontrol keasaman produk. Selama penyimpanan suhu rendah, yogurt masih mengalami perubahan derajat keasaman. Perubahan derajat keasaman tersebut nampak lebih nyata pada penyimpanan 7°C (Salji dan Ismail, 1983). Pada pendinginan yang terlalu awal, produk yogurt mempunyai flavor dan konsistensi yang kurang kuat serta kemungkinan dapat terjadi pemisahan whey. Sebaliknya bila saat pendinginan terlambat, flavor dapat menjadi pahit dan terlalu asam (Bottazzi, 1985). Pada umumnya saat pendinginan yang paling baik adalah pada waktu pH mencapai 4,7-4,5. Pendinginan ini juga merupakan upaya untuk mendapatkan kondisi suhu yang baik bagi penyimpanan yogurt. Pada kondisi seperti ini biasanya yogurt tahan selama 2 minggu.

MIKROBIOLOGI YOGURT

Seperti disebutkan terdahulu yogurt merupakan produk olahan susu secara fermentasi dengan bantuan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat adalah bakteri yang dapat memfermentasi gula seperti laktosa dan glukosa menjadi asam laktat. Bakteri pembentuk asam laktat dapat dikelompokkan menjadi 4 genus, yaitu *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan

Leuconostoc.

Mikroorganisme utama dalam pembuatan yogurt adalah *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*. Kedua mikroorganisme tersebut tumbuh bersama-sama dan bertanggung jawab dalam fermentasi yogurt.

Dua komponen utama dalam susu yang berperan dalam pembuatan yogurt adalah laktosa dan kasein. Dalam proses fermentasi, laktosa diubah menjadi asam laktat oleh *L. bulgaricus* yang bersimbiosis dengan *S. thermophilus*. Selama proses fermentasi ini kandungan laktosa dalam susu turun sekitar 30 %. Akumulasi asam laktat akan menyebabkan kenaikan keasaman susu atau penurunan pH. Terbentuknya asam laktat yang tinggi akan menurunkan pH sehingga dapat mencegah pertumbuhan bakteri pembusuk seperti *Clostridium* dan *Staphylococcus*.

Kasein merupakan bagian terbesar penyusun protein susu (76%). Didalam susu, kasein merupakan partikel-partikel yang besar. Kenaikan keasaman karena akumulasi asam laktat menyebabkan kasein menjadi tidak stabil dan terkoagulasi membentuk 'gel yogurt. Terbentuknya gel yogurt tersebut menyebabkan tekstur yogurt menjadi semi padat.

L. bulgaricus merupakan bakteri berbentuk batang, tidak berspora, non motile dan gram positif. Bersifat homofermentatif dan fakultatif anaerob. Suhu optimum bertumbuhannya 45-50°C dengan pH optimum untuk pertumbuhan 6,0. Bakteri ini merupakan penghasil asam laktat yang tinggi dan mampu hidup sampai keasaman 2,5-3 persen. Asam laktat tersebut dihasilkan dari pemecahan glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa dan laktosa. *S. thermophilus* merupakan bakteri berbentuk bulat atau spiral, tidak berspora, non motile dan gram positif. Bakteri ini bersifat homofermentatif, an aerob, mempunyai pertumbuhan optimum pada suhu 40-45°C dan pH 6,8 serta tahan terhadap keasaman 0,85-0,89 persen (Pederson, 1970).

S. thermophilus tumbuh terlebih dahulu karena dirangsang pertumbuhannya oleh adanya histidin dan lisin hasil degradasi oleh *L. bulgaricus*. *L. bulgaricus* tumbuh pesat setelah *S. thermophilus* memasuki fase stasioner. *L. bulgaricus* lebih tahan terhadap keasaman tinggi dibandingkan dengan *S. thermophilus* (O'leary dan Woychik, 1976). Produksi asam oleh *L. bulgaricus* meningkat dengan adanya asam format dan CO₂ yang dihasilkan oleh *S. thermophilus*. Pulusani dan Rao, 1984 menyatakan bahwa 0,15 mM asam format dapat meningkatkan aktivitas antimikrobia dari *L. bulgaricus* dalam susu.

Untuk menghasilkan yogurt dengan rasa dan aroma yang baik diperlukan perbandingan yang sama antara kedua bakteri tersebut. Komponen flavor yogurt adalah asam laktat yang tidak berbau serta asetaldehide, diasetil dan asam asetat yang mempunyai aroma kuat (Vedamuthu, 1982). Perbandingan starter yang tidak seimbang dapat menyebabkan flavor busuk. Jika *Streptococcus* menjadi dominan maka asetaldehide, komponen flavor utama yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* akan berkurang dan yogurt yang dihasilkan kasar dan asam. Sebaliknya bila *Lactobacillus* yang dominan, diasetil yang dihasilkan mungkin tidak cukup (Sharpe dan Pettipher, 1983).

Selain mikroorganisme utama tersebut diatas, ada pula beberapa bakteri asam laktat lainnya yang kadang ditambahkan seperti *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* (Rasic dan Kurmann dalam Wood, 1985). Penambahan khamir dalam pembuatan yogurt akan memberikan yogurt dengan rasa alkohol.

NILAI GIZI YOGURT

Yogurt merupakan produk dari fermentasi susu. Komposisi gizi yogurt sebanding dengan komposisi gizi susu. Komponen kimia

yogurt dapat dilihat pada tabel 4.1. Secara umum nilai gizi yogurt lebih tinggi dari pada susu segar. Kenaikan nilai gizi ini dapat disebabkan oleh 2 hal. Pertama, kenaikan nilai gizi yogurt karena adanya penambahan bahan tertentu yang sengaja ditambahkan. Disamping itu, selama proses fermentasi terjadi pemecahan senyawa-senyawa kompleks dalam susu menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna. Calsium dalam yogurt juga lebih mudah diserap oleh tubuh. Menurut Breslaw dan Kleyn (1973), dalam jumlah yang sama yogurt dapat dicerna dalam waktu 1 jam, sedang dalam bentuk susu diperlukan waktu paling sedikit 3 jam.

Tergantung dari bahan-bahan yang digunakan, yogurt mempunyai kandungan lemak yang bervariasi. Low-fat yogurt dapat direkomendasikan pada konsumen yang harus mengatur kandungan kolesterol dalam darahnya. Low-fat yogurt ini mempunyai nilai gizi mirip dengan plain yogurt kecuali kandungan lemak dan kolesterolnya yang sangat rendah serta mengandung kalori sekitar duapertiga dari plain yogurt. Flavored dan fruited yogurt mengandung sukrosa yang bervariasi dan mempunyai kalori yang tinggi, dua kali kalori plain yogurt.

Selama proses fermentasi terjadi kenaikan protein terlarut. Beberapa peneliti mengemukakan bahwa protein yogurt dapat dicerna dua kali lebih mudah dari pada protein susu. Selama fermentasi terjadi kenaikan jumlah asam amino bebas dalam yogurt sehingga jumlah asam amino bebas dalam yogurt lebih tinggi dari pada dalam susu (Groux dalam Bottazzi, 1985). Selain itu karbohidrat dalam yogurt juga lebih mudah dicerna karena sekitar 30 % laktosa dalam susu dihidrolisa selama proses fermentasi. Hal ini sering dikaitkan dengan ketidakmampuan mencerna laktosa dalam susu karena tidak dijumpainya laktase, enzim yang dapat memecah laktosa susu di dalam tubuh yang dikenal dengan 'lactosa intolerance'. Meskipun laktosa tidak dapat dihidrolisa semua, tetapi

Tabel 4.1. Komposisi kimia plain yogurt untuk setiap 200 gram

Komposisi	Yogurt	Komposisi	Yogurt
Energi	650 kj	Calcium	330 mg
Protein	9 g	Phospor	280 mg
Lemak	8 g	Magnesium	30 mg
Karbohidrat	12 g	Seng	1,2 mg
Kolesterol	30 mg	Thiamin	0,1 mg
Sodium	140 mg	Riboflavin	0,5 mg
Potasium	440 mg	Vitamin A	72 μ g

Sumber: Rogers (1990)

kandungan laktosa dalam yogurt mungkin sudah cukup berkurang sehingga yogurt dapat aman dikonsumsi oleh orang yang tidak dapat mencerna laktosa. Bahkan yogurt yang dibuat dari fermentasi susu yang diberi perlakuan dengan laktase dapat mengalami penurunan kandungan laktosa sampai 80 % (O'leary dan Woychik, 1976). Yogurt sangat cocok untuk orang-orang tua yang disarankan untuk minum susu untuk mencegah degradasi tulang yang disebabkan karena kekurangan calcium, karena tidak menyebabkan diare. Agaknya hal-hal tersebut diatas yang menyebabkan orang percaya mengkonsumsi yogurt menjadikan tubuh lebih sehat dan dapat memperpanjang usia dibandingkan dengan mengkonsumsi susu tanpa pasteurisasi.

JENIS DAN KUALITAS YOGURT

Yogurt banyak dijual di supermarket-supermarket dalam bentuk yang bermacam-macam. Plain yogurt adalah yogurt yang dibuat tanpa penambahan gula maupun flavor tambahan selain susu. Yogurt ini akan memberikan flavor yogurt yang alami. Plain yogurt ini dapat langsung dikonsumsi atau digunakan dalam salad dicampur dengan buah-buahan segar atau sayuran. Disamping itu dapat pula ditambahkan sukrosa untuk mengurangi rasa asamnya. Yogurt sering pula ditambah dengan flavor seperti lemon, vanila ataupun campuran buah-buahan.

Berdasarkan sifat fisiknya, yogurt dapat berbentuk cair atau kental, semi padat, padat (frozen yogurt), dan berbentuk bubuk (dried yogurt).

Pada umumnya kandungan lemak susu dalam yogurt berkisar antara 1,0-3,25 % yang ditentukan oleh peraturan masing-masing negara. Di tiga negara bagian Amerika yogurt mengandung bahan padat bukan lemak tidak kurang dari 8,5 % dan kandungan lemaknya bervariasi antara 3,2-3,5 %. Di Jerman, kandungan lemak dalam yogurt adalah 3 %. Sedang Holland mensyaratkan kandungan bahan padat bukan lemak tidak kurang dari 9 % (Bottazzi, 1985). Low-fat yogurt mengandung lemak tidak kurang dari 0,5 % dan tidak lebih dari 2 %. Sedang non-fat yogurt mengandung kurang dari 0,5 % lemak. Ketiganya mengandung bahan padat bukan lemak minimum 8,25 % (Reed, 1983).

Kualitas yogurt ditentukan oleh beberapa kriteria seperti flavor, keasaman, komposisi dan nilai gizi, kenampakan, dan kandungan mikroorganismenya.

Yogurt yang baik mempunyai kenampakan yang lembut, tidak berpasir dan tidak berbuih serta mempunyai viskositas yang cukup tinggi, kokoh dan kompak untuk dapat diambil dan dimakan dengan sendok.

Yogurt dapat terkontaminasi oleh khamir, jamur dan

bakteri. Khamir sangat mudah tumbuh dalam produk fermentasi susu seperti yogurt sehingga dapat merubah flavor dan mutunya. Kontaminasi yogurt oleh khamir dapat berasal dari bahan dasar, bahan tambahan, peralatan maupun selama proses pembuatan dan penyimpanan. Buah-buahan dan sukrosa yang ditambahkan merupakan media yang baik bagi pertumbuhan khamir. Mutu yogurt berdasarkan kandungan mikroorganismenya dapat dilihat pada tabel 4.2.

Selain khamir, bakteri *coli* adalah sangat tidak dikehendaki ada dalam yogurt. Walaupun bakteri *coli* pada umumnya tidak patogen, tetapi adanya bakteri *coli* dalam suatu bahan makanan selalu dikaitkan dengan rendahnya tingkat sanitasi bahan dan proses yang bersangkutan. Kondisi sanitasi tidak diragukan lagi memegang peranan yang sangat penting dalam proses fermentasi yogurt.

PENUTUP

Saat ini produk-produk fermentasi susu termasuk yogurt dapat ditemui diberbagai supermarket, dikemas dalam wadah karton atau plastik yang menarik. Pada waktu membeli yogurt supaya diperhatikan tanggal (use-by date) dan juga kemasannya. Setelah dibeli yogurt segera disimpan di dalam refrigerator. Bila yogurt telah dibuka, harus ditutup kembali dengan tutupnya yang sudah tersedia atau ditutup dengan kling plastik. Yogurt tersebut dapat disimpan selam 7-10 hari.

Tabel 4.2. Kualitas mikroorganisme yogurt

Jenis mikroorganisme	Jumlah	Klasifikasi
<i>S thermophilus</i> dan <i>L bulgaricus</i>	> 100 ⁶ /ml	baik
	10 ⁶ -100 ⁶ /ml	meragukan
	< 10 ⁶ /ml	tidak baik
Bakteri coliform	< 1/ml	baik
	1-10/ml	meragukan
	> 10/ml	tidak baik
Khamir dalam plain yogurt	< 10/ml	baik
	10-100/ml	meragukan
	> 100/ml	tidak baik
Khamir dalam yogurt buah	< 100/ml	baik
	100-1000/ml	meragukan
	> 1000/ml	tidak baik
Jamur	< 1/ml	baik
	1-10/ml	meragukan
	> 10/ml	tidak baik

Sumber : Davies et al dalam Bottazzi (1985)

DAFTAR PUSTAKA

Bottazzi, V., 1985. *Other fermented dairy products* dalam Rehm, H. J., dan Reed, G., *Biotechnology* Vol. 5. Verlag Chemic. Weinheim. Deerfield Beach, Florida.

- Breslaw, E. S., dan Kleyn, D. H., 1973. In vitro digestibility of protein in yogurt at various stages of processing. *J. Food Science*, 38:1016-1021.
- Mitsuoka, T. 1989. *Microbes in the intestine, our lifelong partners*. Yakult Honsha Co., Ltd., Japan.
- Nasirudin. 1989. *Yogurt dari susu pada berbagai umur simpan*, Skripsi S1, Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- O'leary, V. S., dan Woychik, J. H., 1976. A Comparison of some chemical properties of yogurts made from control and lactase-treated milks, *J. Food Science*, 41:791-793.
- Pederson, C. S., 1971. *Microbiology of food fermentations*. The AVI Publishing Co. Inc. Westport, Connecticut.
- Pulusani, S. R., dan Rao, D. R., 1984. Stimulation by formate of antimicrobial activity of *Lactobacillus bulgaricus* in milk, *J. Food Science*, 49:652-653.
- Reed, G., 1983. *Industrial microbiology* 4th ed., Avi Publ. Co., Westport, Connecticut.
- Rogers, J., 1990. *The Encyclopedia of food and nutrition*. Merehurst. London.
- Salji, J. P., dan Ismail, A. A., 1983. Effect of initial acidity of plain yogurt on acidity changes during refrigerated storage, *J. Food Science.*, 48: 258-259.

Sharpe, M. E., dan Pettipher, G. L., 1983. Food spoilage by lactic-acid bacteria dalam Rose, A. H., *Food microbiology, economic microbiology Vol. 8.*, Academic Press Inc. London.

Vedamuthu, E. R., 1982. Fermented milks dalam Rose, A. H., *Fermented foods, economic microbiology Vol. 7.* Academic Press Inc. London.

Wood, B. J. B., 1985. *Microbiology of fermented foods.* Elsevier Applied Science Publisher, London.

BAB V

PIKEL

PENDAHULUAN

Pikel merupakan hasil pengolahan sayuran atau buah-buahan secara fermentasi dalam larutan garam. Mikrobial yang berperan dalam proses fermentasi ini adalah bakteri pembentuk asam laktat, sehingga senyawa yang ada dalam bahan dasar sayuran atau buah-buahan akan dirubah menjadi asam laktat. Terbentuknya asam ini dapat berfungsi sebagai pengawet sehingga akan memperpanjang umur simpan bahan.

Selain dengan cara fermentasi, pengolahan pikel dapat dilakukan secara langsung ditambah asam cuka atau asam cuka yang dicampur dengan gula dan rempah-rempah, tanpa proses fermentasi. Di Indonesia proses pengolahan pikel tanpa fermentasi ini lebih banyak dijumpai dari pada proses pengolahan pikel dengan fermentasi, seperti misalnya pembuatan acar ketimun. Tentu saja rasa, aroma dan tekstur dari pikel yang dibuat dengan cara fermentasi akan lebih spesifik dan berbeda dengan pikel yang dibuat tanpa fermentasi.

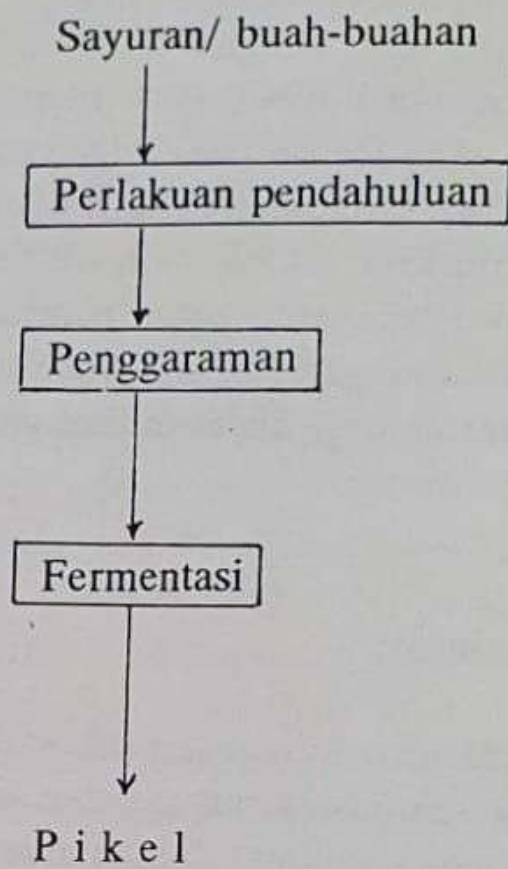
Pikel merupakan makanan yang telah lama dikenal, baik didalam maupun diluar negeri. Produk-produk pikel misalnya, sayur asin, kimchi, acar, sauerkraut, dan lain-lain.

PEMBUATAN PIKEL

Seperti telah diuraikan diatas, pikel dapat dibuat tanpa fermentasi, atau dengan feremntasi. Pembuatan pikel dengan cara fermentasi dibedakan menurut konsentrasi garam yang dipakai, yaitu fermentasi dengan larutan garam rendah kira-kira 8% atau 30° salinometer (Sal); dengan larutan garam konentration tinggi kira-kira 10,5% atau 40°Sal; atau dengan penambahan garam kristal yaitu pada pembuatan sauerkraut (Pederson, 1971). secara garis besar urutan proses pembuatan pikel secara fermentasi dapat dilihat pada diagram berikut (Gambar 5.1).

Bahan dasar

Bahan dasar pembuatan pikel adalah sayuran dan buah-buahan. Hampir semua macam sayuran atau buah-buahan dapat dibuat pikel, hanya saja cara pembuatannya berbeda. Perbedaan cara pembuatan ini terletak pada cara penambahan garamnya, lama fermentasi, dan flavor yang dikehendaki dari fermentasi tersebut. bahan harus dipilih yang segar, tidak cacat, seragam, dan tidak berjamur. Komposisi kimia bahan merupakan faktor penting yang harus diperhatikan, terutama kandungan gula. Kandungan gula dalam bahan ini menentukan perlu tidaknya penambahan gula dari luar, karena gula merupakan substrat utama fermentasi yang akan diubah menjadi asam laktat dan senyawa-senyawa lain. Kandungan gula yang baik untuk feremntasi asam laktat adalah 5-20% (Prescott dan Dunn, 1959). Untuk bahan yang kandungan gulanya kurang dari 5% perlu dilakukan penambahan gula sebesar kurang lebih 1% (Cruess, 1948).



Gambar 5.1. Diagram alir pembuatan pikel

Perlakuan pendahuluan

Perlakuan ini meliputi pemilihan bahan (sortasi) dan pencucian. Sortasi dimaksudkan untuk memisahkan bahan yang cacat karena pertumbuhan mikrobial atau kerusakan mekanis selama penanganan bahan. Sedangkan pencucian dimaksudkan untuk menghilangkan kotoran yang menempel serta untuk mengurangi jumlah mikrobial kontaminan. Untuk mencegah timbulnya jamur dan kontaminan lainnya sebelum difermentasi dapat dilakukan perendaman dalam larutan klorin 50 ppm dalam beberapa saat, baru kemudian dimasukkan dalam wadah secara hati-hati (Prescott dan Dunn, 1959).

Penggaraman

Penggaraman merupakan proses yang penting dalam pembuatan pikel agar terjadi proses fermentasi yang dikehendaki. Larutan garam berfungsi untuk mengeluarkan cairan dalam bahan karena tekanan osmotik. Cairan bahan yang banyak mengandung gula, protein, lemak dan mineral ini merupakan media selektif bagi pertumbuhan bakteri dan mikrobial lain. Besarnya tekanan osmotik ini tergantung pada jumlah dan ukuran molekul garam dalam larutan. Garam yang mempunyai ukuran molekul besar akan mempunyai tekanan osmotik yang rendah, demikian juga sebaliknya ukuran molekul yang relatif kecil dapat memperlihatkan tekanan osmotik yang besar. Garam yang digunakan harus bersih dan tidak terkontaminasi dengan bakteri halofilik, serta tidak tercampur dengan bahan-bahan lain.

Pada saat cairan bahan keluar dari bahan, garam akan diserap oleh bahan sehingga bahan menjadi kukuh dan renyah. Akibat dari peristiwa ini konsentrasi garam dalam larutan akan turun. Hal ini akan memungkinkan pertumbuhan mikrobial pembusuk. Untuk mempertahankan konsentrasi garam dalam

larutan, perlu ditambahkan garam kristal sebanyak 9% dari berat bahan (Prescott dan Dunn, 1959). Pada konsentrasi ini cukup untuk mengeluarkan cairan bahan tanpa mengubah konsentrasi garam secara berarti.

Teknik penggaraman piksel ada dua cara (Vaughn, 1985), yaitu:

1). **Dry salting** : yaitu penggaraman dengan menggunakan garam kristal sebanyak 50 gram per kg bahan. Cara ini jarang digunakan dalam pembuatan piksel.

2). **Brine salting** : yaitu penggaraman dengan merendam dalam larutan garam konsentrasi 20-40°Sal atau antara 5,3-10,5%.

Perbedaan konsentrasi garam akan menentukan jenis mikrobial yang tumbuh. Berdasarkan konsentrasi garam yang digunakan, dikenal dua cara penggaraman (Prescott dan Dunn, 1959), yaitu:

1). **Penggaraman dengan larutan garam konsentrasi rendah.** Bahan direndam dalam larutan garam 30°Sal (8%) dan ditambah dengan garam kristal halus sebanyak 9% dari berat bahan. Kemudian konsentrasi garam dinaikkan 3°Sal per minggu hingga konsentrasi akhir mencapai 60°Sal (15,9%). Dengan cara ini fermentasi berjalan cepat, tekstur piksel yang dihasilkan kurang baik, dan bahaya kerusakan oleh bakteri pembusuk lebih besar.

2). **Penggaraman dengan larutan garam konsentrasi tinggi.** Bahan direndam dalam larutan garam 40°Sal (10,5%) dan ditambah garam kristal halus sebanyak 9% dari berat bahan. Konsentrasi garam dinaikkan 2°Sal per minggu hingga kadar garam mencapai 50°Sal dan selanjutnya dinaikkan 1°Sal per minggu hingga konsentrasi akhir mencapai 60°Sal. Dengan cara ini fermentasi berjalan lambat, tekstur piksel yang dihasilkan

lebih keras, dan bahaya kerusakan oleh mikrobia perusak sangat kecil.

Fermentasi

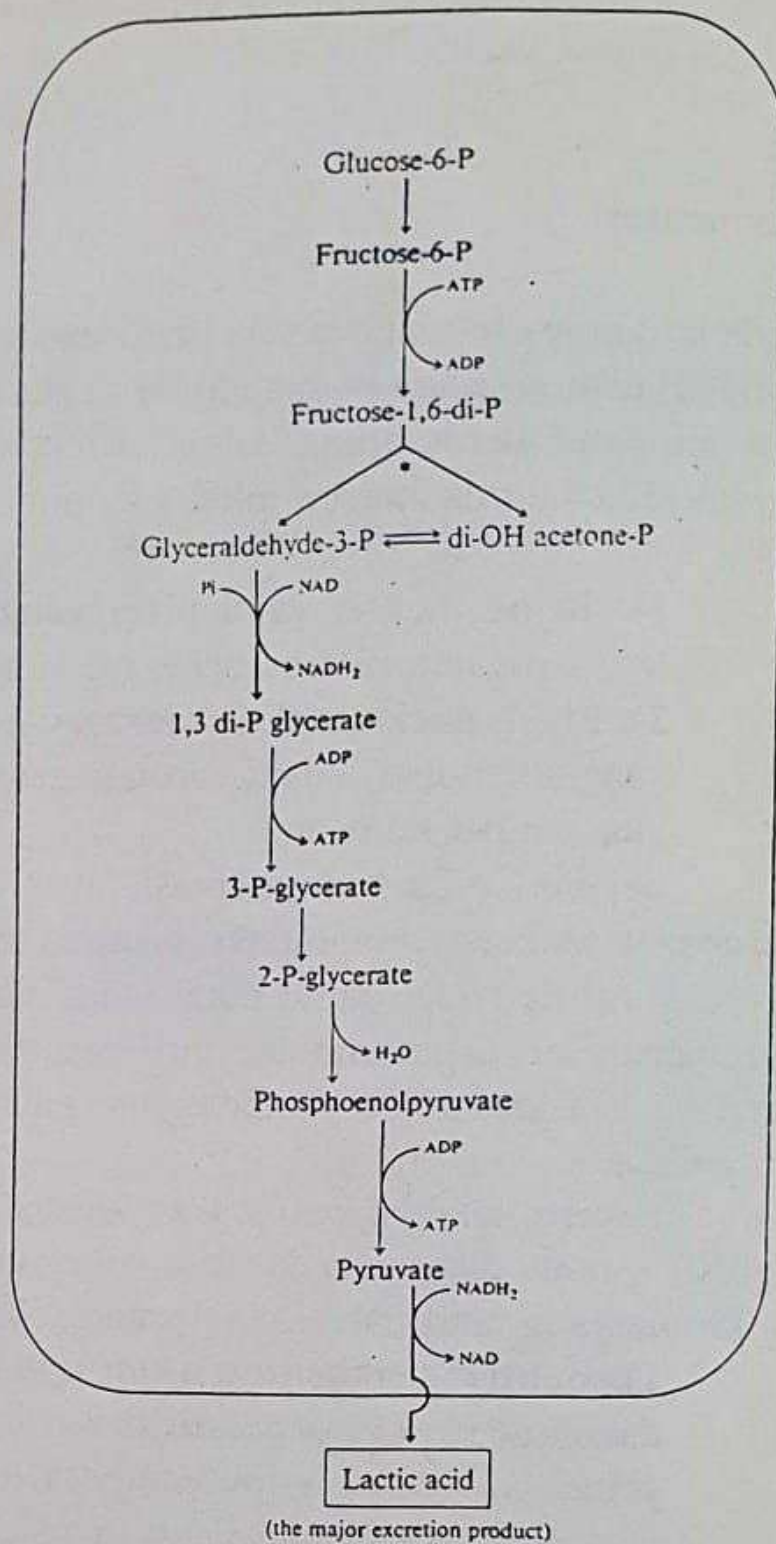
Pada umumnya fermentasi pickel berlangsung antara 4 sampai 6 minggu, namun secara komersial fermentasi berlangsung selama 2-6 minggu. Berdasarkan lama perendaman dalam larutan garam, dikenal dua macam pickel (Bennion dan Hughes, 1975), yaitu:

- 1). **Brine pickle:** yaitu pickel yang difermentasi dalam larutan garam selama beberapa minggu.
- 2). **Fresh pack pickle (unfermented pickle):** yaitu pickel yang direndam dalam larutan garam selama beberapa jam sampai semalam.

Selama proses fermentasi akan terjadi perubahan-perubahan fisikawi, biokimiawi, maupun mikrobiawi yang akan berpengaruh terhadap mutu pickel yang dihasilkan. Perubahan-perubahan ini dapat dilihat dari perubahan warna, flavor, tekstur, keasaman, dan kandungan gula dalam pickel yang dihasilkan.

Seperti telah dikemukakan diatas, bahwa konsentrasi larutan garam akan menentukan jenis mikrobia yang aktif. Mikrobia yang aktif dalam pembuatan pickel adalah:

- 1). **Bakteri pembentuk asam laktat.** Bakteri ini masuk dalam genus *Lactobacillus* dan dibedakan menjadi dua, yaitu: **Golongan homofermentatif:** yaitu bakteri yang mampu memfermentasi gula menjadi asam laktat sebagai sebagian besar produknya dan sejumlah kecil asam asetat, CO₂, dan senyawa-senyawa volatil yang lainnya. Pemecahan ini melalui jalur Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP: Gambar 5.2) dan enzim spesifik pada jalur EMP ini adalah fruktosa-difosfo-aldolase. Enzim ini tidak

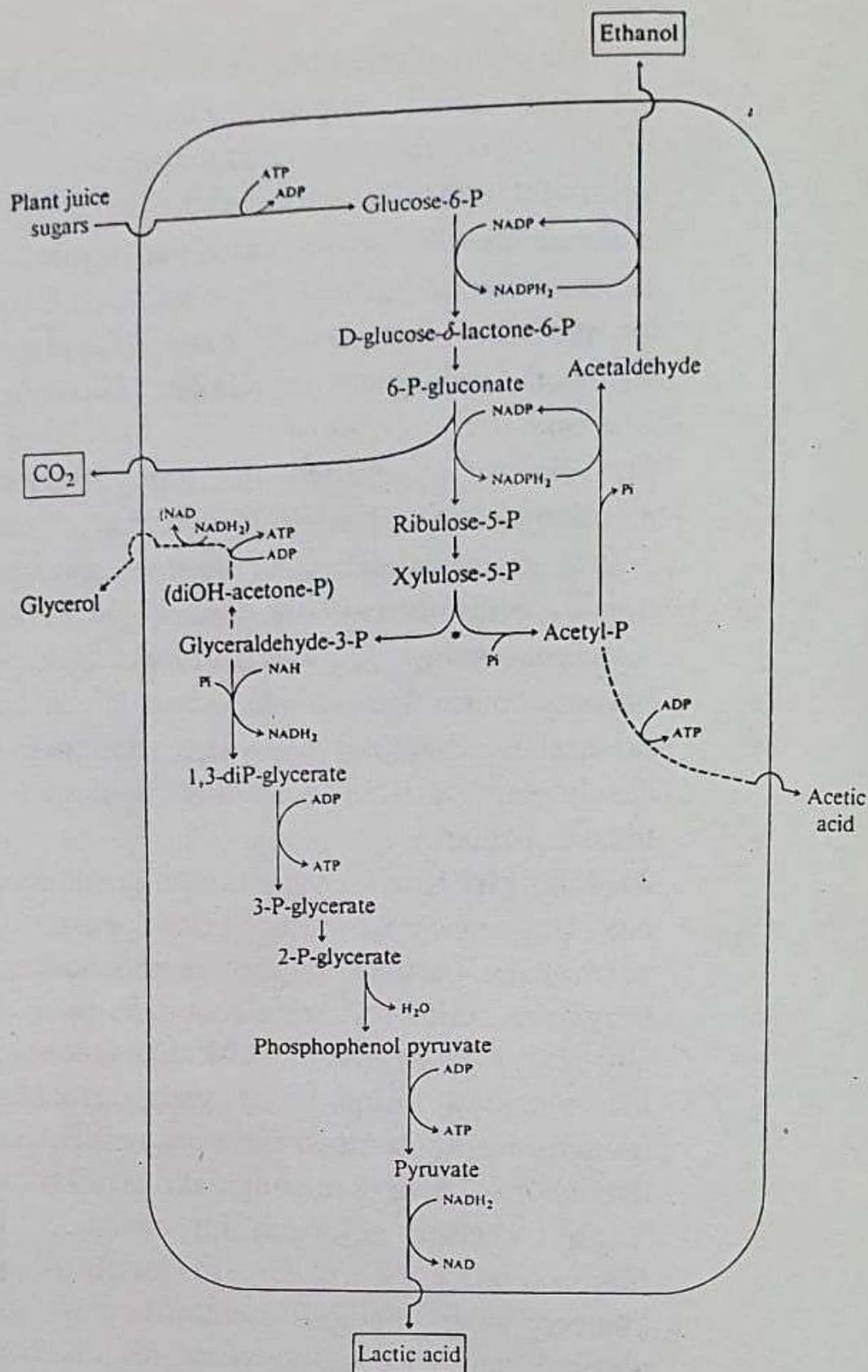


Gambar 5.2. Jalur pemecahan Embden-Meyerhoff-Parnas yang digunakan oleh bakteri homolitik
 (Sumber: Clans, 1989)

dimiliki oleh golongan heterofermentatif. Yang termasuk golongan ini adalah: *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus*, *Pediococcus*. **Golongan heterofermentatif:** yaitu bakteri yang memfermentasi glukosa menjadi asam laktat dan sejumlah besar asam asetat, ethanol, gliserol, manitol, dan CO₂. Pemecahan ini melalui jalur fosfoketolase (Gambar 5.3). Yang termasuk golongan ini adalah: *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc*.

2). **Bakteri pembentuk gas.** Bakteri ini akan membentuk gas hidrogen dan CO₂. Yang termasuk golongan ini adalah *Leuconostoc*, *Lactobacillus* yang bersifat heterofermentatif, dan aerobacter (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*). Bakteri aerobacter biasanya berasal dari bahan dasar. Tanda adanya bakteri ini adalah terbentuknya gas H₂S selain juga CO₂. Bakteri aerobacter bersifat pektolitik sehingga melunakkan tekstur bahan.

3). **Khamir.** Khamir yang tumbuh pada fermentasi pickel ada dua macam, yaitu: **Film yeast**, tumbuh pada permukaan larutan garam membentuk lapisan tipis berwarna putih, dan lama kelamaan menjadi berwarna abu-abu. Khamir tipe ini tidak dikehendaki karena dapat mengoksidasi asam laktat yang terbentuk, sehingga mengurangi konsentrasi asam pada pickel, dan selanjutnya dapat berakibat berkembangbiaknya mikrobia pembusuk. Yang termasuk golongan ini adalah: *Debaryomyces*, *Endomycopsis*, *Candida*. **Fermentatif yeast**, yaitu khamir yang mampu memfermentasi gula menjadi alkohol dan CO₂. Tipe yeast ini dikehendaki dalam pembuatan pickel. Yang termasuk golongan ini adalah *Torulopsis*, *Bretanomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hansenula*, *Klockera*.



Gambar 5.3. Jalur pemecahan pentosa fosfoketolase yang digunakan oleh bakteri heterolitik
(Sumber: Clans, 1989)

Pada tahap awal fermentasi (kadar garam rendah) tumbuh bakteri asam laktat golongan heterofermentatif dan khamir, selanjutnya pada kadar garam dan asam yang semakin tinggi akan tumbuh bakteri homofermentatif dan khamir. Pada konsentrasi garam yang tinggi (pada kenaikan kadar garam 10-15%) *Lactobacillus plantarum* berkurang keaktifannya. Selanjutnya pada pasca fermentasi yaitu pada kondisi anaerob, akan tumbuh khamir, jamur dan bakteri (Rose, 1982).

Pikel hasil fermentasi ini kemudian dapat dilakukan proses penyempurnaan sesuai dengan selera konsumen atau sesuai dengan macam pikel yang dikehendaki. Macam-macam pikel, antara lain:

- 1). **Pikel asam:** ditambahkan asam cuka secukupnya pada larutan garam yang digunakan untuk merendam bahan.
- 2). **Pikel manis:** dilakukan penambahan gula sampai kadar tertentu sesuai dengan selera konsumen.
- 3). **"Dill pickle":** ditambahkan bumbu tertentu dalam proses fermentasinya. Setelah fermentasi selesai, bahan dicuci dan direndam dalam larutan garam 5%.
- 4). **"Mixed pickle":** disiapkan dari campuran beberapa macam pikel.

FAKTOR-FAKTOR YANG PERLU DIPERHATIKAN

Bahan dasar

Bahan dasar berpengaruh pada mutu hasil pikel. Bahan dasar yang baik dan diikuti proses fermentasi yang normal dan terkontrol akan menghasilkan mutu pikel yang baik pula. Bahan dasar yang baik adalah bebas dari cacat karena serangan

serangga atau kerusakan mekanis, masih segar, dan tidak terlalu masak.

Garam

Garam yang digunakan berkualitas baik, berwarna putih, tidak terkontaminasi bakteri halofilik, tidak mengandung alkali, dan mempunyai kadar NaCL 99%. Penggunaan garam yang mengandung yodium tidak baik sebab dapat menyebabkan pewarnaan pada pickel yang dihasilkan. Selain itu kadar garam juga berpengaruh terhadap jenis mikrobia yang tumbuh pada fermentasi pickel. Pada kadar garam yang terlalu tinggi akan menyebabkan pengkerutan bahan dan menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat.

Air

Air yang digunakan untuk pembuatan pickel adalah yang mempunyai kesadahan rendah. Air yang mengandung zat besi dapat menyebabkan pewarnaan pickel yaitu menjadi hitam. Begitu pula adanya alkali dalam air dapat menetralkan asam yang terbentuk selama fermentasi pickel, sehingga jumlah asam berkurang, akibatnya pickel mudah diserang mikrobia pembusuk (Bennion dan Hughes, 1975).

Suhu

Suhu berpengaruh pada aktifitas enzim selama fermentasi. Pada suhu yang rendah enzim tidak aktif, sedangkan pada suhu tinggi enzim mengalami kerusakan karena proses denaturasi. Tetapi pada suhu yang tinggi yang didukung dengan kadar garam yang

rendah, akan menyebabkan enzim proteolitik aktif. Hal ini dapat menyebabkan kelunakan pikel.

Oksigen

Pada kondisi aerob, mendorong pertumbuhan khamir dan jamur yang tidak dikehendaki dalam proses fermentasi pikel karena dapat menyebabkan kerusakan dan kelunakan pikel. Oleh karena itu perlu dijaga kondisinya tetap anaerob agar bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik.

Kebersihan alat

Untuk menghindari kontaminasi oleh mikrobia lain, perlu dilakukan sterilisasi alat yang digunakan. Gunakan alat yang terbuat dari stainless steel, enamel, atau kayu, dan hindari alat yang terbuat dari besi, timah atau tembaga.

KERUSAKAN-KERUSAKAN PADA PIKEL

Pikel hasil fermentasi dapat bertahan beberapa tahun jika disimpan dalam larutan garam 60-70°Sal. Kerusakan pikel umumnya terjadi pada saat berlangsungnya proses fermentasi. Kerusakan tersebut umumnya diakibatkan karena aktifitas mikrobia maupun karena pengaruh kimiawi seperti kadar garam, gula, atau asam. Jenis-jenis kerusakan pikel misalnya (Frazier, 1958):

- 1). **Shriveling**: pengkerutan bahan karena kadar garam, asam atau gula yang terlalu tinggi.
- 2). **Hollow**: pembengkakan pikel yang disebabkan oleh

kadar garam yang terlalu rendah, fermentasi yang terlalu cepat, bahan dasar yang kurang baik, keadaan wadah yang terlalu longgar, dan tidak terendamnya bahan dalam larutan garam.

3). **Floater atau bloater**: pembengkakan pickel yang disebabkan terbentuknya gas oleh khamir atau *Lactobacillus brevis* karena terlalu tebalnya kulit sehingga pertukaran gas terhambat, terlalu cepatnya produksi gas selama fermentasi, konsentrasi garam pada awal fermentasi terlalu tinggi, dan penambahan asam atau gula yang tidak terkontrol.

4). **Slippery**: yaitu permukaan bahan yang mengkilat karena terbentuknya buih oleh khamir (film yeast) dan bakteri karena kondisi yang tidak anaerob, atau bahan dasar yang tersembul keluar dari larutan garam.

5). **"Soft pickle"**: kelunakan pickel yang disebabkan karena terjadinya perubahan protopektin menjadi pektin oleh aktifitas enzim poligalakturonase. Enzim ini dihasilkan oleh bakteri *Bacillus*, jamur atau khamir. Pelunakan ini didukung juga oleh kadar garam yang terlalu rendah, suhu tinggi, keasaman rendah, atau adanya udara.

6). **Black pickle**: perubahan pickel menjadi hitam karena bereaksinya gas H_2S yang dihasilkan oleh bakteri dengan Fe atau garam $CaSO_4$ yang ada dalam air menjadi ferrosulfid. Reaksi ini ditunjang dengan keasaman yang rendah. Black pickle kemungkinan juga disebabkan oleh pertumbuhan bakteri *Bacillus nigrificans* yang membentuk warna hitam.

7). **Ropy pickle**: disebabkan karena pertumbuhan bakteri gram negatif dan bakteri pembentuk kapsula akibat kadar garam dan asam yang rendah, dan suhu yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Bennion, M., dan Hughes, 1975. *Introductory food*. 6th. Ed. Mc. Milan Publ. Co. New York.

Claus, G.W., 1989. *Understanding microbes. A laboratory textbook for microbiology*. W.H. Freeman & Co. New York.

Cruess, W.V., 1948. *Commercial fruit and vegetable product*. Mc. Graw Hill Book Co. Inc. New York.

Frazier, W.C., 1958. *Food microbiology*. Mc. Graw Hill Book Co. New York.

Pederson, C.S., 1971. *Microbiology of food fermentation*. Avi Publ. Co. Inc. Westport.

Prescott, S.C., dan Dunn, 1959. *Industrial microbiology*. Avi Publ. Co. Inc. Westport.

Rose, A.H., 1982. *Fermented foods*. Academic Press Inc. London.

Vaughn, R. H., 1985. The microbiology of vegetable fermentations. In "*Microbiology of fermented food*". Wood B.J., (Ed). Vol. 1. Elsevier Appl. Sci. Publ. London.

BAB VI

NATA DE COCO

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara penghasil kelapa dengan jumlah yang cukup besar. Tanaman kelapa ini dijumpai hampir diseluruh wilayah Indonesia. Pemetikan buah kelapa kadang-kadang tidak menunggu sampai buah benar-benar tua, karena air serta daging buah kelapa yang masih muda rasanya lezat serta dapat diminum maupun dimakan langsung atau dibuat es kelapa muda. Pada umur tujuh bulan rasa air kelapa paling lezat, sedang sebelum umur tujuh bulan air kelapa belum terasa manis juga flavornya belum terbentuk. Kelapa yang tua mempunyai air kelapa yang flavornya sangat tajam serta rasanya yang kurang lezat, sehingga kadang-kadang air kelapa yang tua hanya dibuang begitu saja.

Di Indonesia kelapa banyak diproduksi menjadi kopra yang merupakan salah satu komoditi ekspor, atau diolah menjadi minyak kelapa serta hasil olahan yang lain. Kelapa yang diolah menjadi berbagai produk ini harus mempunyai tingkat kemasakan yang optimal. Oleh karena itu, buah kelapa yang rasanya sudah kurang lezat sering dibuang begitu saja sebagai limbah. Pembuangan air kelapa disembarang tempat, khususnya di tanah pertanian dapat menyebabkan tingkat keasaman tanah menurun, karena air kelapa mudah difermentasi baik oleh khamir maupun bakteri sehingga dihasilkan alkohol dan asam. Senyawa-senyawa inilah yang menyebabkan turunnya keasaman tanah yang lebih lanjut dapat mengganggu tanamannya.

Berdasarkan kenyataannya bahwa sampai sejauh ini air kelapa belum banyak dimanfaatkan dan sebagai limbah dapat merugikan, perlu dipikirkan suatu cara guna pemanfaatannya. Cara-cara ini tentu saja dipilih yang sederhana, sehingga dapat diterapkan diseluruh wilayah Indonesia, khususnya dipedesaan sebagai daerah penghasil kelapa yang utama.

Di negara Pilipina, air kelapa digunakan sebagai bahan dasar proses fermentasi menggunakan sejenis bakteri yaitu *Acetobacter xylinum*. Hasil fermentasi ini disebut "nata de coco" yang bentuknya seperti agar-agar dan kekenyalannya seperti kolang-kaling. Seperti halnya kolang-kaling, nata de coco ini digunakan sebagai makanan penyegar. Nata de coco sudah sangat dikenal di Pilipina dan merupakan salah satu makanan tradisional khas Pilipina, serta banyak diproduksi di industri rumah tangga.

Melihat negara Indonesia yang mempunyai potensi tinggi di dalam memproduksi kelapa, sangatlah dimungkinkan untuk pengembangan produksi nata, terutama di daerah penghasil kelapa.

Dari beberapa penelitian telah didapatkan kondisi yang baik untuk pembuatan nata dari air kelapa. Di dalam cairan yang digunakan untuk fermentasi nata harus terdapat sumber karbon, nitrogen, sulfur maupun fosfor. Sebagai sumber karbon digunakan sukrosa, dan sebagai sumber N,S,P, maupun nutrisi yang lain sering digunakan garam-garam amonium, yeast ekstrak dan pepton. Karena bahan-bahan sebagai sumber nutrisi ini tidak mudah diperoleh di pedesaan atau daerah penghasil kelapa, maka perlu dicari bahan alternatif yang lain. Pada pembuatan nata yang akan disampaikan berikut ini sebagai sumber nutrisi alternatif digunakan ekstrak kecambah kacang hijau, yang mudah diperoleh di pasar.

AIR KELAPA

Air kelapa merupakan hasil samping proses produksi kopra, minyak kelapa, "deciccated coconut" serta hasil olahan yang lain. Dalam jumlah kecil air kelapa dapat dimanfaatkan, tetapi dalam jumlah besar sering kali air kelapa ini justru merugikan. Air kelapa yang dibuang begitu saja di tanah mudah terkontaminasi dengan khamir dan bakteri khususnya bakteri pembentuk asam, sehingga asam yang dihasilkan dapat menurunkan tingkat keasaman tanah dan sekaligus mengganggu tanamannya.

Dalam jumlah yang tidak cukup besar, air kelapa dapat juga dimanfaatkan, baik sebagai bahan baku industri makanan maupun minuman ataupun dari segi khasiatnya untuk pengobatan. Air kelapa dapat digunakan sebagai bahan pembuatan asam cuka, sedang ditinjau dari khasiatnya, air kelapa dapat digunakan sebagai obat cacingan, merupakan minuman yang baik bagi penderita kolera, menghilangkan gangguan pencernaan, mencegah rasa mual dan lainnya (Woodroof, 1970).

Air kelapa mempunyai komposisi seperti pada Tabel 6.1, serta mengandung beberapa vitamin seperti pada Tabel 6.2. Karena banyaknya mineral serta vitamin yang terdapat di dalam air kelapa menjadikan air kelapa sebagai cairan yang bernutrisi serta merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan mikrobial. Gula yang terdapat di dalam air kelapa mudah terfermentasi menjadi alkohol maupun asam asetat.

Tabel 6.1. Komposisi air kelapa

Komponen	(%)
Air	95,50
Kalium	6,60
Zat padat total	4,71
Gula total	2,08
Gula reduksi	0,80
Kalsium oksida	0,69
Mineral (abu)	0,62
Magnesium oksida	0,59
Asam fosfat	0,56
Fe	0,50
Nitrogen	0,05

Sumber: Pandalai (1958) dalam Woodroof (1970)

Tabel 6.2. Komposisi vitamin dalam air kelapa

Vitamin	$\mu\text{g/ml}$
Asam nikotinat	0,01
Biotin	0,02
Asam pantotenat	0,52
Riboflavin	0,01
Asam folat	0,03

Sumber: Dolendo dan Pacita (1967)

KECAMBAH KACANG HIJAU

Biji kacang hijau termasuk biji-bijian sebagai sumber karbohidrat dan protein, kecuali itu, terdapat pula unsur-unsur lain seperti disajikan pada Tabel 6.3 (Department of Agricultural Communication USOA, 1970).

Tabel 6.3. Komposisi biji kacang hijau

Komponen	Kandungan/100 g
Karbohidrat	64,60 g
Protein	24,40 g
Lemak	1,00 g
Serat kasar	4,30 g
A b u	3,90 g
Ca	125,00 mg
P	340,00 mg
Fe	5,70 mg
Na	6,00 mg
K	141,00 mg
Tiamin	0,66 mg
Riboflavin	0,22 mg
Niasin	2,40 mg
Asam askorbat	10,00 mg

Perkecambahan biji dimulai dengan penyerapan air maupun oksigen oleh biji pada peristiwa perendaman. Apabila peristiwa ini didukung oleh suhu yang sesuai akan menyebabkan embrio pada biji yang mulanya dalam keadaan dorman menjadi aktif. Embrio mulai mengeluarkan enzim yang lebih lanjut, enzim ini terdifusi ke dalam endosperm dan menghidrolisis pati, protein, fosfoorganik, lipida dan senyawa lain ke bentuk yang lebih sederhana. Senyawa sederhana ini terdifusi ke dalam embrio dan digunakan untuk aktivitas metabolismenya.

Peristiwa perkecambahan menyebabkan perubahan baik sifat fisika maupun kimia biji. Kecuali biji menjadi lebih lunak, komponen yang terlarutpun meningkat, sehingga hasil ekstraksi kecambah kacang hijau merupakan cairan yang bernutrisi.

NATA

Nata atau lebih dengan nama nata de coco merupakan makanan hasil fermentasi dari air kelapa, khas negara Pilipina, digunakan sebagai makanan penyegar. Nata juga dapat dibuat dari bahan yang lain yang selanjutnya namanya disesuaikan dengan bahan dasarnya. Nata yang dibuat dari cairan buah nanas disebut "nata de pina", yang dibuat dari jambu mete disebut "nata de cashew".

Nata dibentuk oleh bakteri asam asetat yang disebut *Acetobacter xylinum*. Bakteri ini tergolong famili *Pseudomonadaceae* dan termasuk genus *Acetobacter*, berbentuk bulat, ukuran dua mikron, biasanya terdapat sebagai sel tunggal atau kadang-kadang membuat ikatan menyerupai rantai dengan sel lain, non-motil dan Gram negatif. Bakteri ini membentuk asam dari glukosa, etil alkohol, propil alkohol dan glikol, mengoksidasi asam asetat menjadi gas CO_2 dan H_2O (air). Sifat yang spesifik dari bakteri ini adalah kemampuannya untuk

membentuk selaput tebal pada permukaan cairan fermentasi, yang ternyata adalah komponen selulosa (Lapuz et al, 1967). Komponen inilah yang lebih lanjut disebut sebagai nata.

Acetobacter xylinum dalam proses fermentasi nata mengubah glukosa menjadi selulosa secara ekstraseluler. Komponen selulosa ini akan membentuk jalinan mikrofibril yang panjang dalam cairan fermentasi. Gelembung-gelembung gas CO₂ yang dihasilkan selama fermentasi mempunyai kecenderungan melekat pada jaringan selulosa ini, sehingga menyebabkan jaringan tersebut terangkat ke permukaan cairan. Pederson, 1971, menyebutkan bahwa nata yang terbentuk di permukaan cairan akan turun ke bawah kalau terjadi gangguan selama fermentasi, misalnya adanya goncangan.

PEMBUATAN NATA

Proses pembuatan nata yang disajikan pada tulisan ini didasarkan pada dua cara, pertama, mengacu pada Sanchez (tahun ?), yaitu menggunakan kalium fosfat, amonium sulfat dan magnesium sulfat sebagai sumber nutrisi bakteri, kedua, menggunakan ekstrak kecambah, yaitu hasil penelitian yang dilakukan penulis. Adapun yang disajikan dalam diagram alir hanya pembuatan nata yang menggunakan ekstrak kecambah sebagai sumber nutrisi.

Bahan yang digunakan di dalam pembuatan nata adalah: air kelapa, kecambah, sukrosa, asam asetat, bakteri *A. xylinum*, serta sumber nutrisi bakteri, yaitu kalium fosfat, amonium sulfat dan magnesium sulfat. Adapun tahapan pembuatan nata disajikan berikut ini:

(a) **Penyiapan biakan murni.** Pembuatan nata dimulai

dengan menyiapkan biakan murni *A. xylinum*. Bakteri ini ditumbuhkan pada media agar miring. Komposisi media agar miring sama dengan komposisi untuk fermentasi nata hanya ditambah dengan agar-agar kurang lebih 15 %. Umur bakteri yang digunakan di dalam fermentasi nata adalah 2-3 hari.

(b) **Preparasi larutan fermentasi.** Tahap berikutnya adalah preparasi larutan fermentasi yang dibuat melalui dua cara. Pertama, larutan fermentasi menggunakan cara yang disampaikan oleh Sanchez, dengan komposisi sebagai berikut:

Air kelapa	1000	ml
Sukrosa	100	g
Yeast ekstrak	1,25	g
K ₂ HPO ₄	2,50	g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,30	g
MgSO ₄ . 2H ₂ O	0,10	g

Cara yang kedua menggunakan ekstrak kecambah, dengan komposisi sebagai berikut :

Air kelapa	1000	ml
Ekstrak kecambah	100	ml
(100 g kecambah dalam 200 ml air yang dididihkan 30 menit)		
Sukrosa	100	g

Kedua cairan fermentasi tersebut pH nya diatur menggunakan asam asetat sampai pH 4.

(c) **Penyiapan starter.** Tahap berikutnya adalah penyiapan starter. Starter dipersiapkan dengan cara yang sama dengan penyiapan larutan fermentasi baik cara yang pertama maupun cara yang kedua. Besarnya volume starter 50 ml, yang disiapkan dalam erlenmeyer kapasitas 100 ml. Starter dengan

volume 50 ml setelah disterilkan diinokulasikan dengan 1 tabung biakan agar miring *A. xylinum*. Caranya, tabung biakan agar miring *A. xylinum* diberi 1 cc aquades steril secara aseptis, bakteri yang menempel pada agar miring tersebut dilarutkan dalam aquades menggunakan ose, lebih lanjut aquades steril yang sudah tercampur dengan bakteri dimasukkan ke dalam 50 cc starter. Starter diinkubasikan selama 1 hari.

(d) **Fermentasi nata.** Fermentasi nata dilakukan pada gelas (botol gelas) yang berkapasitas 500 ml, diameter 8,5, atau 'stoples' gelas dengan kapasitas yang lebih besar. Masing-masing gelas diberi cairan fermentasi sebanyak 250 ml. Setelah disterilkan masing-masing cairan fermentasi diinokulasi dengan starter. Starter sebanyak 50 ml digunakan untuk inokulasi cairan fermentasi sebanyak 250 ml. Fermentasi dilakukan secara aerob, dan supaya tidak mudah terkontaminasi, pada masing-masing gelas fermenter ditutup dengan kain saring. Fermentasi nata berlangsung selama 14 hari. Pada hari ke dua selama fermentasi berlangsung mulai tampak adanya substansi dipermukaan cairan. Substansi inilah yang disebut sebagai nata atau pelikel nata. Pelikel nata ini lama kelamaan menjadi tebal dan mencapai tebal yang optimum pada hari ke 14. Dengan penambahan waktu fermentasi ternyata tidak terjadi penambahan tebal yang berarti.

Berdasarkan pengamatan berat dan tebal nata setelah fermentasi berlangsung selama 14 hari pada cairan fermentasi pertama (Sanchez) maupun kedua (penulis), diperoleh hasil seperti tertera dalam Tabel 6.4. Dari uji statistik, ternyata kedua cairan fermentasi ini tidak memberikan perbedaan hasil yang nyata.

Tabel 6.4. Tebal dan berat nata hasil fermentasi

	Tebal (cm)	Berat (gr)
Cairan fermentasi pertama	9,69	39,24
Cairan fermentasi kedua	9,41	39,07

Keterangan: angka ini diperoleh dari rata-rata 9 x ulangan. Fermentasi dilakukan pada cairan fermentasi 300 ml, menggunakan botol fermenter kapasitas 500 ml (diameter 8,5 cm), selama 14 hari.

(e) **Pengunduhan nata.** Pengunduhan nata dilakukan setelah proses fermentasi berakhir. Nata ini lebih lanjut disajikan atau sekaligus diawetkan dalam larutan sirup. Dari hasil analisis terhadap nata yang telah diawetkan dalam sirup, didapatkan komposisi nata sebagai berikut: air 67,7 %, protein nol, lemak 0,2 %, kalsium 12 mg %, besi 5 mg %, fosfor 2 mg %, thiamin sedikit, riboflavin 0,01 μ g %. Ditinjau dari komposisi ini ternyata hanya sedikit komponen yang terdapat dalam air kelapa terikut di dalam nata, sehingga dapat dikatakan bahwa nata benat-benar hanya merupakan makanan penyegar yang nilai nutrisinya kecil (Dolendo dan Pacita, 1967). Tetapi untuk menaikkan nilai nutrisi nata, dapat juga dilakukan penambahan beberapa vitamin maupun mineral selama proses pengawetan nata di dalam air sirup.

FAKTOR-FAKTOR YANG BERPENGARUH PADA FERMENTASI NATA

Pada fermentasi nata, bakteri *A. xylinum* dapat tumbuh dengan baik apabila di dalam cairan fermentasi terdapat kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya, yaitu terdapat sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, magnesium maupun unsur yang lain. Kecuali kondisi cairan fermentasi, kondisi lingkungan juga harus sesuai antara lain suhu serta aerasi.

Pada awal fermentasi nata terjadi kenaikan jumlah sel yang cepat dan setelah hari ke dua tampak adanya substansi berbentuk lapisan tipis yang terdapat di permukaan cairan. Lapisan tipis yang disebut sebagai nata setiap harinya semakin tebal dan setelah proses fermentasi berlangsung selama 14 hari, penebalan tidak bertambah lagi. Pada saat ini fase pertumbuhan bakteri sudah mencapai fase stasioner, artinya bertambahnya jumlah sel bakteri dengan jumlah kematian sel seimbang. Bahkan dimungkinkan jumlah sel yang mati lebih banyak, sehingga proses fermentasi di dalam nata tidak aktif lagi. Hal ini dapat ditunjukkan dengan sering terjadinya kontaminasi yang disebabkan oleh jamur pada fermentasi nata yang berlangsung selama lebih dari 14 hari. Pada awal fermentasi dengan cairan fermentasi, bakteri, lingkungan serta sanitasi yang baik, jarang fermentasi terkontaminasi oleh jamur. Karena bakteri *A. xylinum* yang dominan tumbuh serta menghasilkan asam, mampu mencegah terjadinya kontaminasi. Tetapi setelah fermentasi berlangsung lebih dari 14 hari, kondisi bakteri sudah menurun serta didukung dengan suasana yang aerob, mempermudah terjadinya kontaminasi.

Pada kondisi fermentasi yang kurang baik, misalnya sumber karbon, nitrogen, mineral dalam jumlah terlalu sedikit, serta pH yang sangat rendah atau di atas netral mengakibatkan pertumbuhan *A. xylinum* terhambat. Akibat yang ditunjukkan oleh terhambatnya pertumbuhan *A. xylinum* adalah nata yang

dihasilkan tipis serta lunak, bahkan pada kondisi yang sangat tidak menguntungkan tidak dihasilkan nata, walaupun masih nampak adanya pertumbuhan. Pada kondisi seperti ini fermentasi nata mudah diserang oleh mikrobia kontaminan. Cairan fermentasi mudah diserang oleh khamir maupun bakteri kontaminan, sedang nata hasil fermentasinya mudah ditumbuhi jamur.

Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam fermentasi nata adalah pengaturan kondisi fermentasi sehingga diperoleh kondisi yang optimum untuk pertumbuhan bakteri *A. xylinum*, meliputi derajat keasaman, suhu, sumber karbon, maupun nutrisi lainnya (nitrogen, sulfur, fosfor dan lain-lain). Sel bakteri harus muda dan jumlahnya dalam cairan fermentasi harus cukup. Karena bakteri ini bersifat aerob maka aerasi juga berpengaruh.

Lapuz et al. (1967) dan Alaban (1962) menyebutkan beberapa faktor yang berpengaruh pada fermentasi nata, yaitu:

(a) **Tingkat keasaman.** Lapuz et al. (1967) telah mengadakan percobaan pembuatan nata pada berbagai variasi pH yaitu pH 2 s/d 8 pada medium air kelapa-sukrosa. Ternyata nata hanya terbentuk pada interval pH 3,5 sampai 7,5. Pada pH 3,5 dan 7,5 dihasilkan nata yang tipis serta lunak. Tingkat keasaman yang optimum untuk pembentukan nata adalah pH 5,0 - 5,5.

Alaban (1962) juga telah mengadakan percobaan pembuatan nata pada medium yang terdiri dari air kelapa, sukrosa dan yeast ekstrak dengan variasi pH 3 - 11. Ternyata pada pH awal 8 bakteri *A. xylinum* mulai terhambat pertumbuhannya dan pada pH awal 9, bakteri *A. xylinum* sudah tidak dapat tumbuh. Pada pH rendah yaitu 3, bakteri *A. xylinum* hanya tumbuh sedikit. *A. xylinum* tumbuh paling banyak dan diikuti dengan pembentukan nata yang tebal dan kukuh pada pH awal 4 - 6. Sehingga kalau kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum sekitar 7, maka *A. xylinum* mempunyai kondisi yang

lebih asam.

(b) **Temperatur.** Baik Lapuz et al. (1967) maupun Alaban (1962) di dalam penelitiannya memperoleh hasil bahwa temperatur optimum fermentasi nata adalah 28 - 31°C atau pada suhu kamar. Pada temperatur ini dihasilkan nata yang paling tebal dibanding dengan fermentasi pada suhu lainnya. Pada suhu 20°C, pertumbuhan *A. xylinum* terhambat sehingga dihasilkan nata yang tipis serta lunak. Pada suhu 15°C ternyata *A. xylinum* tidak dapat tumbuh. Pada suhu 35°C, nata juga tidak terbentuk, walaupun masih tampak adanya pertumbuhan.

(c) **Gula sebagai sumber karbon.** Penelitian yang dilakukan Lapuz et al. memberikan hasil bahwa pada dasarnya nata dapat dihasilkan dari cairan fermentasi yang mengandung dekstrosa, galaktosa, sukrosa, laktosa maupun maltosa sebagai sumber karbon (C). Hanya pada cairan fermentasi maltosa dan laktosa dihasilkan nata yang tipis dan lunak dan pada cairan fermentasi galaktosa dihasilkan nata yang sangat tipis. Nata yang tebal dan kukuh dihasilkan pada cairan fermentasi dekstrosa dan sukrosa, sedang konsentrasi dekstrosa maupun sukrosa yang optimum adalah 10 %. Alaban juga menyebutkan bahwa sebagai sumber karbon yang paling baik adalah sukrosa dan glukosa, sedang konsentrasi yang optimum adalah 5 - 8 %. Pada konsentrasi gula di bawah 5 % akan diperoleh nata yang tipis dan lunak.

(d) **Sumber nitrogen.** Lapuz et al. telah melakukan fermentasi nata dengan variasi sumber nitrogen. Ternyata dari 5 variasi sumber nitrogen yaitu, kalium nitrat, natrium nitrat, amonium sulfat, amonium fosfat dan bactopecton, yang memberikan hasil paling baik adalah amonium fosfat diikuti oleh amonium sulfat. Penggunaan kalium maupun natrium nitrat sebagai sumber nitrogen ternyata sangat tidak efisien.

Dari hasil penelitian yang dilakukan Alaban ternyata cairan fermentasi yang menggunakan yeast ekstrak serta pepton sebagai sumber nitrogen, menghasilkan nata yang lebih tebal

dan kukuh dibanding dengan cairan fermentasi yang menggunakan amonium sulfat maupun kalium nitrat.

Lebih lanjut Alaban (1962) menyebutkan bahwa bakteri *A. xylinum* dapat membentuk nata pada medium air kelapa sukrosa, air buah tomat, air buah jeruk maupun air buah nanas, tetapi hasil yang paling baik adalah pada medium air kelapa - sukrosa. Agar diperoleh kondisi pertumbuhan yang optimum maka pada cairan fermentasi harus terdapat sukrosa sebanyak 5 - 8 %, asam asetat glasial 2 - 5 %, dan komponen nitrogen. Tingkat keasaman yang optimum adalah 28 - 32°C atau pada suhu kamar. Fermentasi nata yang efisien berlangsung selama kira-kira 14 hari.

PENUTUP

Usaha pemanfaatan air kelapa untuk pembuatan nata dapat dilakukan melalui proses fermentasi menggunakan bakteri *A. xylinum*. Di dalam proses fermentasi ini diperlukan penambahan sukrosa sebagai sumber karbon, beberapa mineral sebagai sumber nutrisi yang dapat diganti dengan ekstrak kecambah serta asam asetat untuk pengaturan pH. Setelah fermentasi berlangsung selama 14 hari, nata siap untuk diunduh dan diproses lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

Alaban, C.A., 1962. Studies on the optimum conditions for "nata de coco" bacterium or "nata" formation in coconut water. *The Philippine Agriculturist*, 45 : 490-515.

Dimaguila, L.S., 1963. The nata de coco - chemical nature and properties of nata. *The Philippine Agriculturist*, 51 : 475-484.

Departement of Agricultural Communication USOA, 1970. Bean and pea. Production in the Philippine Colage. Legume. (?)

Dolendo, L.A. and Pacita, M.L., 1967. Preparation and storage qualities of fortified nata de coco. *The Philippine Journal of Science*. National Institute of Science and Technology, Manila, 96 (4) : 363-375.

Lapuz, M.M., Galardo, E.G., dan Palo, M.A., 1967. The nata organism, cultural requirements, characteristics and identity. *The Philippine Journal of Science*, 96 (2) : 91-96.

Sanchez, P.C., (tahun ?). Preparation of nata. Dept. of Food Science and Technology College of Agriculture, U.P. at Los Banos College, Laguna.

Woodroof, J.G., 1970. *Coconuts, production, processing, products*. Westport, Connecticut. The Avi Publ. Co. Inc. London. 141-147.

Lampiran 1: Diagram alir pembuatan nata de coco

Air kelapa 1000 ml
 Sukrosa 100 g
 Ekstrak kecambah 100 ml
 (100 g kecambah
 dididihkan dalam 200 ml
 selama 30 menit)
 Asam asetat (pH 4)

