



**PERUBAHAN SIFAT MIKROBIOLOGIS DAN KIMIAWI
TEPUNG GAPLEK SELAMA FERMENTASI SPONTAN
SEBAGAI BAHAN BAKU MIE *LETHEK***

SKRIPSI

Oleh :

Rahmawati Indah Puspitasari

141710101113

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
2019**



**PERUBAHAN SIFAT MIKROBIOLOGIS DAN KIMIAWI
TEPUNG GAPLEK SELAMA FERMENTASI SPONTAN
SEBAGAI BAHAN BAKU MIE *LETHEK***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Studi pada Program Strata Satu Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Oleh

**Rahmawati Indah Puspitasari
NIM 141710101113**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT yang telah memberikan limpahan Rahmat serta anugerah kemudahan yang telah diberikan kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya yang telah memberikan dukungan baik moril maupun materil, yang selalu memotivasi saya, menyemangati saya selama ini
2. Prof. Ir. Ach Subagio, M. Agr, Ph. D selaku pembimbing utama dan Ir. Giyarto, M. Sc. selaku pembimbing anggota proyek *“Pengembangan Industri Rumah Tanggah Mie Lethek di Dusun Bendo, Desa Trimurti, Kecamatan Srandakan, Kabupaten Bantul, Yogyakarta”* dan rekan proyek yang selalu memberikan dukungan, bimbingan, motivasi satu sama lain dan pengalaman baru yang bermanfaat;
3. Saudara seperjuangan THP, TEP dan TIP 2014;
4. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

MOTTO

“Barang siapa yang keluar dalam menuntut ilmu maka ia adalah seperti berperang di jalan Allah hingga pulang”

(HR. Tirmidzi)

“Orang yang memiliki kasih sayang, akan disayang oleh Allah Yang Maha Penyayang, Yang Maha Memberi Berkah dan Maha Luhur. Karena itu, berikan kasih sayang kepada siapa pun di muka bumi, maka yang di langit akan menyayangimu.”

(HR. Ahmad, Abu Dawud dan Tirmidzi)

“Bila lelah, istirahatlah. Bila sakit hati, menangislah. Bila rapuh hendak jatuh, bersujud lah. Tapi untuk apa-apa yang tengah kau perjuangkan perihal cita-cita dan impian engkau tak boleh menyerah. Dunia boleh jadi keras, tapi semangatmu tak boleh meranggas.”

(Kang Ihsan)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rahmawati Indah Puspitasari

NIM : 141710101113

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **”Perubahan Sifat Mikrobiologis dan Kimiawi Tepung Gaplek Selama Fermentasi Spontan sebagai Bahan Baku Mie *Lethek*”** adalah sungguh dilakukan sendiri dibawah koordinasi proyek penelitian dengan peneliti utama Prof. Ir. Ach Subagio, M. Agr, Ph. D, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya yang bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang saya junjung tinggi.

Dengan pernyataan ini saya buat sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Januari 2019

Yang menyatakan

Rahmawati Indah Puspitasari
NIM. 141710101113

SKRIPSI

**PERUBAHAN SIFAT MIKROBIOLOGIS DAN KIMIAWI
TEPUNG GAPLEK SELAMA FERMENTASI SPONTAN
SEBAGAI BAHAN BAKU MIE *LETHEK***

Oleh:

Rahmawati Indah Puspitasari
NIM 141710101113

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Ir. Ach Subagio. M. Agr, Ph. D

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Giyarto, M. Sc.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Perubahan Sifat Mikrobiologis dan Kimiawi Tepung Gaplek Selama Fermentasi Spontan sebagai Bahan Baku Mie *Lethek***” karya Rahmawati Indah Puspitasari (NIM. 141710101113), telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, pada:

Hari, Tanggal :

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Dosen Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Ir. Ach Subagio, M. Agr, Ph. D

NIP. 196905171992011001

Ir. Giyarto, M. Sc.

NIP. 196607181993031013

Tim Penguji

Ketua

Anggota

Dr. Nurhayati, S. TP., MSi

NIP. 197904102003122004

Ahmad Nafi, S.TP., M.P

NIP. 197804032003121003

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Jember

Dr. Siswovo Soekarno, S.TP., M.Eng.

NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

Perubahan Sifat Mikrobiologis dan Kimiawi Tepung Gaplek Sebagai Bahan Baku Mie *Lethek* Selama Fermentasi; Rahmwati Indah Puspitasari; 141710101113; 2018: 57 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Mie *letheke* merupakan makanan khas Bantul, Yogyakarta yang terbuat dari tapioka dan tepung gaplek. Pemberian nama mie *letheke* dikarenakan tampilan warna mie yang dihasilkan cenderung berwarna kusam. Mie *letheke* tergolong unik karena memiliki karakteristik seperti *starch based noodle* atau mie yang terbuat dari pati. Pengolahan mie *letheke* masih menggunakan alat-alat tradisional. Tahapan pengolahan mie *letheke* meliputi fermentasi spontan dengan cara perendaman tepung gaplek selama 3 hari dan selama fermentasi terdapat penggantian air sebanyak ± 8 kali. Pengolahan mie dilanjutkan dengan pembuatan adonan, pemadatan dan pemotongan, pengukusan, penampuran ke dua, pencetakan, pengukusan ke dua, pendiaman satu malam, penguraian dan pengeringan dibawah sinar matahari. Adanya tahapan fermentasi dapat merubah struktur pati tepung gaplek, sehingga dapat merubah karakteristik fisik maupun kimiawi tepung gaplek. Namun masih belum diketahui mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tersebut. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mikroba yang berperan dalam fermentasi dan mengetahui laju pertumbuhan mikroba selama fermentasi, serta untuk mengetahui perubahan sifat kimiawi *slurry* tepung gaplek selama fermentasi.

Rancangan penelitian ini menggunakan faktor tunggal yaitu perbedaan lama fermentasi. Lama waktu fermentasi yang digunakan yaitu 0, 12, 24, 36, 48, 60 dan 72 jam. Penelitian ini menggunakan tepung gaplek sebagai bahan utama. Variabel pengamatan pada penelitian ini yaitu angka total bakteri asam laktat, angka total kapang dan khamir, nilai pH, nilai total asam laktat tertitrasi dan suhu ruang serta suhu *slurry* selama fermentasi spontan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka jumlah bakteri asam laktat, kapang dan khamir mengalami peningkatan, namun

pada jam ke-60 jumlah bakteri asam laktat dan khamir mengalami penurunan, sedangkan jumlah kapang mengalami kenaikan. Jumlah bakteri asam laktat pada jam ke-0 sebesar sebesar 5,60 log cfu/mL dan pada jam ke-72 sebesar 9,70 log cfu/mL. Jumlah khamir pada jam ke-0 5,34 log cfu/mL dan pada jam ke-72 menjadi 8,60 log cfu/mL. Jumlah kapang pada jam ke-0 5,06 log cfu/mL dan pada jam ke-72 menjadi 8,26 log cfu/mL. Nilai pH *slurry* maupun pasta tepung gaplek selama fermentasi terus mengalami penurunan, namun pada jam ke-60 mengalami kenaikan dan penurunan kembali pada jam ke-72. Nilai pH *slurry* maupun pasta secara berurutan yaitu 5,75; 4,25; 3,9; 3,65; 3,55; 3,75 dan 3,55. Nilai total asam laktat tertitiasi terus mengalami peningkatan, namun pada jam ke-60 dan jam ke-72 mengalami penurunan. Nilai total asam laktat berturut-turut sebesar 0,102; 0,162; 0,258; 0,342; 0,354; 0,318 dan 0,312. Suhu *slurry* selama fermentasi berkisar antara 28 - 30°C dan suhu ruang selama fermentasi berkisar antara 24 - 28°C. Tingginya jumlah mikroba pada fermentasi tepung gaplek sebagai bahan baku mie letek tidak membuat mie letek berbahaya untuk dikonsumsi. Hal ini dikarenakan terdapat tahapan proses lainnya yang dapat membunuh mikroba saat fermentasi, sehingga mie yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi.

SUMMARY

The Changes of Chemical and Microbiology in Gapek Flour as Lethek Noodle Raw Material During Fermentation; Rahmwati Indah Puspitasari; 141710101113; 2018: .. pages: Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember

Lethek noodles is typical Bantul food, Yogyakarta. Lethek noodles were making from tapioca and cassava flour. Giving the name letheke because the appearance of the color of the noodles produced tends to be dull in color. Lethek noodles is unique because they have characteristics such as starch noodles or noodles made from starch. The processing of letheke noodles still were using traditional tools. The stages of letheke noodle processing were including spontaneous fermentation by soaking cassava flour for 3 days and during fermentation there is ± 8 times water replacement. The processing of noodles are continued by making dough, compaction and cutting, steaming, mixing second, printing, second steaming, one night planting, decomposition and drying under the sun. The stages of fermentation can change the structure of cassava flour starch, so that it can change the physical and chemical characteristics of cassava flour. But microorganism is still unknown which plays a role in the fermentation. Therefore, the purpose of this research was to determine the microorganisms that play a role in fermentation and determined the growth rate of microorganisms during fermentation, and knew the changing chemical properties of cassava flour slurry during fermentation.

The design of this study used a single factor, namely the difference in length of fermentation. The duration of fermentation used is 0, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours. This study used cassava flour as the main ingredient. The observation variables in this study were the total number of lactic acid bacteria, the total mold number and yeast, the pH value, the total value of titrated acetic acid and the room temperature and the temperature of the slurry during spontaneous fermentation.

The results showed that the longer the fermentation time the number of lactic acid bacteria, mold and yeast increased, but in the 60th hour the number of lactic acid bacteria and yeast decreased while the number of molds increased. The number of lactic acid bacteria at 0th hours is equal to 5.60 log cfu / mL and at 72 hours at 9.70 log cfu / mL. The number of yeast at the 0th hour is 5.34 log cfu / mL and at 72 hours is 8.60 log cfu / mL. The number of molds at 0th hour is 5.06 log cfu / mL and at 72 hours is 8.26 log cfu / mL. The pH value of slurry and cassava flour paste during fermentation continued to decrease, but at the 60th hour it increased and decreased again at the 72nd hour. The pH value of slurry and pasta in sequence is 5.75; 4.25; 3.9; 3.65 and 3.55. The total value of titrated lactic acid continues to increase, but at the 60th hour and 72nd hours decreased. The total value of lactic acid is 0.102; 0.162; 0.258; 0.342; 0.354; 0.318 and 0.312. The temperature of slurry during fermentation ranges from 28 – 30^oC and the room temperature during fermentation ranges from 24 – 28^oC. The high number of microorganisms in fermented cassava flour as raw material for lethekek noodles does not make lethekek noodles dangerous for consumption. This is because there are other process stages that can kill microorganisms during fermentation, so the noodles produced are safe for consumption.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Perubahan Sifat Mikrobiologis dan Kimiawi Tepung Gaplek Selama Fermentasi Spontan sebagai Bahan Baku Mie *Lethek*”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Dengan selesainya penyusunan skripsi ini, penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bimbingan dan membantu dalam penyelesaian skripsi ini, antara lain kepada:

1. Bapak Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Bapak Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember;
3. Bapak Prof. Ir. Ach Subagio, M. Agr, Ph. D selaku Dosen Pembimbing akademik dan Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan bantuan dengan kesabaran dalam penyusunan skripsi;
4. Bapak Ir. Giyarto, M. Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan dan bantuan dengan kesabaran dalam penyusunan skripsi;
5. Ibu Dr. Nurhayati, S.TP., MSi dan Bapak Ahmad Nafi, S.TP., M.P. selaku penguji yang telah memberikan saran, evaluasi dan arahan dalam perbaikan penyusunan skripsi;
6. Ibu dan bapak saya beserta keluarga besar yang selalu memberikan do'a dan dukungan;
7. Bapak Yasir Ferry selaku *owner* industri rumah tangga “Mie *Lethek*” yang telah mengizinkan kami untuk melakukan penelitian di industri rumah tangganya yang berada di Dusun Bendo, Desa Trimurti, Kecamatan Srandakan, Kabupaten Bantul, Yogyakarta

8. Rekan penelitian (Indi, Yani, Qonita, Danang, Bagas Denny dan Cahya) yang telah menemani dan membantu dalam proses penelitian saya;
9. Sahabat-sahabatku kontrakan THP-B yang saling memberikan motivasi untuk tetap bersemangat dan memberikan hiburan dalam suka maupun duka;
10. Teman-teman FTP angkatan 2014 khususnya THP B 2014 yang telah menemani saya selama masa perkuliahan, memberikan semangat, dukungan, motivasi serta pelajaran hidup selama masa perkuliahan hingga pengerjaan skripsi;
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan do'a, dukungan, bantuan dan bimbingan selama pengerjaan skripsi;

Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Januari 2019

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tepung Giplek	4
2.2 Tepung Terfermentasi	5
2.3 Mie <i>Lethek</i>	7
2.4 Jenis Mikroba yang Berperan dalam Fermentasi	9
2.4.1 Bakteri Asam Laktat.....	9
2.4.2 Kapang.....	11
2.4.3 Khamir	12
2.5 Tipe Fermentasi dalam Pembuatan Bahan Baku Mie <i>Lethek</i>..	13
2.6 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba	14
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	19
3.2.1 Alat Penelitian	19
3.2.2 Bahan Penelitian	19
3.3 Pelaksanaan Penelitian	20
3.3.1 Rancangan Percobaan	20
3.3.2 Tahapan Penelitian	20
3.3.3 Prosedur Penelitian	21
3.4 Parameter Pengamatan	23
3.5 Prosedur Analisa	23

3.5.1 Uji Angka Bakteri Asam Laktat	23
3.5.2 Uji Angka Kapang dan Khamir	24
3.5.3 Uji pH	24
3.5.4 Uji Total Asam Laktat Tertitiasi	24
3.5.5 Uji Suhu	25
3.6 Analisa Data	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Suhu <i>Slurry</i> dan Pasta Tepung Gaplek Serta Suhu Ruang Selama Fermentasi	26
4.2 Total Bakteri Asam Laktat Selama Fermentasi	28
4.3 Total Kapang Selama Fermentasi	30
4.4 Total Khamir Selama Fermentasi	33
4.5 Nilai pH <i>Slurry</i> dan Pasta Tepung Gaplek	35
4.6 Nilai Total Asam Laktat <i>Slurry</i> dan Pasta Tepung Gaplek	37
BAB 5. PENUTUP	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	48

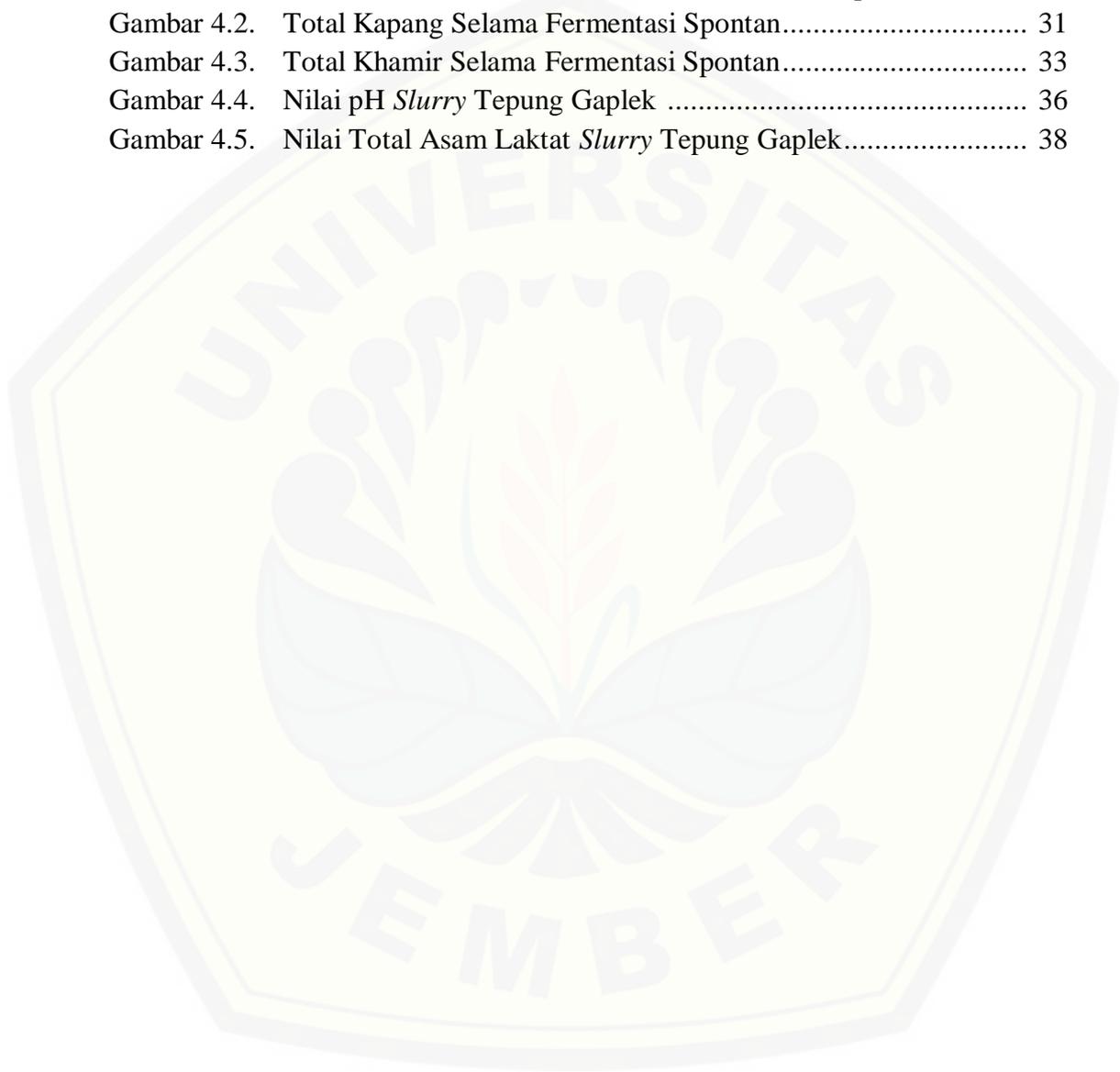
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Kandungan gizi tepung galek per 100 gram	5
Tabel 4.1. Perubahan suhu <i>slurry</i> dan suhu ruang selama fermentasi	26



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Diagram Alir Pembuatan Mie <i>Lethek</i>	8
Gambar 3.1. Tahapan Penelitian	21
Gambar 4.1. Total Bakteri Asam Laktat Selama Fermentasi Spontan.....	28
Gambar 4.2. Total Kapang Selama Fermentasi Spontan.....	31
Gambar 4.3. Total Khamir Selama Fermentasi Spontan.....	33
Gambar 4.4. Nilai pH <i>Slurry</i> Tepung Gaplek	36
Gambar 4.5. Nilai Total Asam Laktat <i>Slurry</i> Tepung Gaplek.....	38



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki sumber daya alam yang melimpah, baik hewani maupun nabati. Salah satu sumber daya alam nabati yang potensial dan dapat digunakan sebagai bahan pangan pokok alternatif sumber karbohidrat yaitu singkong. Menurut Badan Pusat Statistik (2016), pada tahun 2015 produksi singkong mencapai 21.790.956 ton. Singkong dapat diolah menjadi beberapa jenis bahan pangan seperti substitusi pembuatan mie kering (Islamiyati, 2013), keripik, cake, kue basah (Sulusi dkk., 2011), mie kering dan sebagainya. Contoh lain olahan tepung singkong yaitu mie *letheck*.

Mie *letheck* merupakan makanan khas Bantul, Yogyakarta yang terbuat dari tapioka dan pasta tepung galek. Pemberian nama mie *letheck* dikarenakan tampilan warna mie yang dihasilkan cenderung berwarna kusam. Mie *letheck* memiliki keistimewaan yaitu tidak menggunakan bahan pewarna tambahan maupun pemutih dan pengawet, namun mie *letheck* kering dapat bertahan hingga tiga bulan (Sari dkk., 2013). Mie *letheck* tergolong unik karena memiliki karakteristik seperti *starch based noodle* atau mie yang terbuat dari pati dan memiliki elastisitas yang tinggi. Salah satu tahapan proses yang diduga berpengaruh terhadap elastisitas mie *letheck* yaitu tahap fermentasi spontan. Fermentasi spontan dilakukan selama 3 hari dengan dua tipe fermentasi.

Selama fermentasi tepung galek diduga terdapat mikroba yang berfungsi sebagai agen perubahan bahan organik. Menurut penelitian oleh Sari dkk., (2013), terdapat 4 genus bakteri asam laktat yang tumbuh pada air rendaman tepung galek yaitu *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* dan *Leuconostoc*. Adanya pertumbuhan bakteri asam laktat juga dibuktikan dengan adanya aroma asam pada pasta tepung galek terfermentasi. Pertumbuhan bakteri asam laktat selama fermentasi memungkinkan untuk merubah struktur pati tepung galek yang akan berpengaruh terhadap karakteristik produk yang dihasilkan. Bakteri asam laktat dapat mengubah sifat fisik dan kimia bahan, salah satunya yaitu dengan merubah karbohidrat menjadi asam laktat selama fermentasi (Reddy dkk., 2008; Petrov

dkk., 2008). Selain bakteri asam laktat terdapat pula mikroba yang dapat berperan dalam fermentasi karbohidrat yaitu kapang dan khamir. Adanya pertumbuhan bakteri asam laktat telah diketahui namun masih belum ada yang mengkaji tentang adanya pertumbuhan kapang dan khamir. Oleh karena itu perlu dilakukannya penelitian mengenai perubahan sifat mikrobiologis dan kimiawi tepung gaplek selama fermentasi spontan sebagai bahan baku mie *letheke*.

1.2 Rumusan Masalah

Mie *letheke* memiliki keunikan dari segi karakteristiknya yang menyerupai *starch based noodle* serta proses pembuatan maupun alat yang digunakan dalam pembuatan mie *letheke* menimbulkan keunikan yang khas. Keunikan sifat mie *letheke* didapatkan dari proses produksi yang menggunakan fermentasi spontan tepung gaplek sebagai awal proses produksi. Selama fermentasi diduga terdapat mikroba yang berperan merubah sifat fisik dan kimiawi tepung gaplek. Berubahnya sifat tepung gaplek akan berpengaruh terhadap karakteristik produk yang dihasilkan. Semakin lama fermentasi maka semakin banyak jumlah mikroba dan struktur pati yang dirombak, sehingga karakteristik produk yang dihasilkan akan terpengaruh. Mikroba yang berperan dominan selama fermentasi adalah bakteri asam laktat yang dibuktikan dengan aroma asam pada pasta tepung gaplek, namun belum diketahui apakah terdapat mikroba lain yang berperan. Oleh karena itu perlu adanya pengkajian mengenai jenis dan laju pertumbuhan mikroba serta perubahan kimiawi sebagai pendukung pertumbuhan mikroba dalam fermentasi spontan tepung gaplek.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap laju pertumbuhan mikroba.
2. Mengetahui hubungan antara laju pertumbuhan mikroba terhadap perubahan kimiawi pada tepung gaplek terfermentasi spontan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu:

1. Menjadi sumber informasi tentang laju pertumbuhan mikroba pada fermentasi tepung gaplek sebagai bahan baku pembuatan mie *letheke*
2. Mengetahui hubungan antara laju pertumbuhan mikroba terhadap perubahan kimiawi pada tepung gaplek terfermentasi spontan dengan teknik pengolahan mie *letheke*.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tepung Gaplek

Tepung gaplek (*Manihot Esculenta Crantz*) merupakan salah satu hasil olahan singkong yang dikeringkan kemudian dihaluskan hingga 80 mesh. Aroma yang dimiliki tepung gaplek cukup harum dan khas serta memiliki warna putih kecoklatan. Tepung gaplek memiliki banyak kegunaan seperti halnya terigu. Tepung gaplek dapat digunakan sebagai bahan substitusi maupun bahan utama dalam pembuatan mie, kue, roti maupun produk pangan olahan lainnya yang berbasis tepung. Selain manfaat tersebut tepung gaplek juga memiliki kandungan gizi yang tinggi. Per 100 gram tepung gaplek mengandung 88,20 gram karbohidrat dan nilai kalori sebesar 360 kalori.

Tepung gaplek sangat baik bagi pencernaan karena memiliki kandungan serat yang cukup tinggi dan kandungan gula yang rendah dibandingkan dengan gandum, jagung, beras dan sumber karbohidrat lainnya. Menurut Soetanto (2008), dibandingkan dengan sumber karbohidrat yang lain, tepung gaplek memiliki kandungan kalsium dan fosfor yang lebih banyak. Per 100 gram tepung gaplek memiliki kandungan kalsium sebesar 84,00 mg dan kandungan fosfor sebesar 125,00 mg, namun memiliki jumlah zat besi yang hampir sama dengan sumber karbohidrat lainnya. Selain kaya akan serat, kalsium dan fosfor, tepung gaplek juga kaya akan karbohidrat. Tepung gaplek mengandung lemak dan protein yang sangat rendah dan juga tepung gaplek mengandung asam sianida (HCN). Menurut Suprapti Lies (2002), asam sianida dalam singkong maupun gaplek dapat dihilangkan dengan cara perendaman dan pencucian gaplek dalam air. Pemberian *treatment* pengolahan seperti proses pemanasan juga dapat menghilangkan kandungan HCN, karena HCN akan menguap bila terkena panas, fermentasi, pengeringan dan ekstraksi pati. Berdasarkan kandungan asam sianidanya kasava dikelompokkan menjadi dua yaitu tepung gaplek pati dan tepung gaplek manis. Tepung gaplek pati meliputi varietas bosiaru, adira IV, masro, tapiburu, bogor, adira II, SPP. Tepung gaplek manis meliputi varietas Gading, Adira I, W- 1705, W-1548, Valenco, Mangi, Batavia, Singapura.

Tabel 2.1. Kandungan gizi tepung gaplek per 100 gram

Kandungan gizi	Tepung gaplek
Kalori (kal)	363,00
Protein (g)	1,10
Lemak (g)	0,50
Karbohidrat (g)	88,20
Kalsium (mg)	84,00
Fosfor (mg)	125,00
Zat besi (mg)	1,00
Vit. A (SI)	0,00
Vit. B1 (mg)	0,04
Vit. C (mg)	0,00
Air (g)	9,10

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (1981)

2.2 Tepung Terfermentasi

Tepung telah banyak digunakan dalam pengolahan bahan pangan baik skala rumah tangga maupun skala industri. Seringkali tepung yang digunakan adalah tepung tanpa adanya perlakuan fermentasi. Tepung singkong tanpa fermentasi memiliki kekurangan yang sering menghambat aplikasinya dalam pengolahan pangan. Kebanyakan tepung singkong alami menghasilkan suspensi pati dengan viskositas dan kemampuan membentuk gel yang beragam. Hal ini disebabkan profil gelatinisasi pati alami sangat dipengaruhi oleh iklim dan kondisi fisiologis tanaman sehingga jenis pati yang sama belum tentu memiliki sifat fungsional yang sama. Menurut Kusnandar (2010), diantara kekurangan yang utama adalah kebanyakan pati alami tidak tahan pada pemanasan suhu tinggi, kondisi dan proses mekanis. Pati alami memiliki kelarutan terbatas dalam air dan gel pati mudah mengalami sineresis (pemisahan air dari struktur gelnnya) akibat retrogradasi pati. Oleh karena itu, pati alami sering dimodifikasi untuk menghasilkan pati yang sesuai dengan kondisi pengolahan. Pati termodifikasi adalah pati yang telah mengalami perlakuan fisik, kimia maupun biologis yang bertujuan mengubah salah satu atau lebih sifat fisik atau kimia yang penting dari pati (Cui, 2006).

Teknik modifikasi pati yang banyak dilakukan adalah modifikasi secara fisik (pregelatinisasi dan *heat moisture treatment*), modifikasi kimia (modifikasi

ikatan silang, substitusi, oksidasi dan hidrolisis asam) dan modifikasi biologis (fermentasi). Modifikasi dapat juga dilakukan secara kombinasi, misalnya kombinasi modifikasi ikatan silang dan substitusi. Metode modifikasi lainnya yaitu dengan konversi atau hidrolisis pati menjadi karbohidrat rantai pendek, misalnya membentuk maltodekstrin (Kusnandar, 2010). Tepung singkong terfermentasi merupakan modifikasi pati dengan metode modifikasi biologis yang dapat dilakukan dengan fermentasi spontan maupun fermentasi tidak spontan yang memanfaatkan pertumbuhan bakteri asam laktat untuk menghasilkan asam organik terutama asam laktat.

Fermentasi spontan dilakukan dengan cara merendam bahan dalam air pada selang waktu tertentu dengan memanfaatkan mikroba dari lingkungan. Selama perendaman tersebut terjadi perubahan sifat yang disebabkan adanya aktivitas bakteri antara lain adalah bakteri asam laktat (Hounhouigan dkk., 1993a, Johansson dkk., 1995). Fermentasi tidak spontan dilakukan dengan menambahkan starter mikroba spesifik yang akan digunakan selama fermentasi ke dalam bahan.

Salah satu contoh modifikasi biologis (fermentasi) adalah MOCAF atau *Modified cassava flour*. MOCAF merupakan tepung yang berasal dari singkong (*Manihot esculenta Crantz*) dan telah mengalami modifikasi pada sel pati dengan cara fermentasi menggunakan mikrobial yang mendominasi selama fermentasi yaitu BAL (Bakteri Asam Laktat) (Subagio dkk., 2008). Selama fermentasi terjadi liberasi granula pati, hal tersebut dikarenakan hancurnya dinding sel singkong akibat dari adanya enzim pektinolitik dan sellulolitik yang dihasilkan oleh mikrobial yang tumbuh. Adanya fermentasi menyebabkan perubahan karakteristik fisik maupun kimia dari MOCAF yang dihasilkan. Perubahan karakteristik tersebut berupa meningkatnya nilai viskositas (daya lekat), daya rehidrasi, kemampuan gelasi, dan *solubility* (kemampuan melarut) sehingga tekstur yang dimiliki MOCAF lebih baik jika dibandingkan dengan tepung singkong (Subagio dkk., 2008).

Berdasarkan beberapa penelitian mengenai pembuatan mie kering maupun basah dengan substitusi MOCAF menunjukkan hasil yang berbeda beda tergantung dari perbandingan antara MOCAF dan tepung terigu. Menurut

penelitian Lala (2013), dalam pembuatan mie instan perlakuan terbaik yaitu dengan substitusi MOCAF sebanyak 25%. Mie yang dihasilkan memiliki daya serap air sebanyak 247,92%; rendemen 74,078%; kadar lemak 1,759% dan kadar protein 5,311%. Menurut Ginting dkk., (2011) dan Misgiyarta dkk., (2009) menyatakan bahwa dalam pembuatan mie, MOCAF dapat disubstitusikan hingga 30–40% dengan tepung terigu.

2.3 Mie *Lethek*

Mie *letheke* merupakan salah satu makanan khas Bantul, Yogyakarta yang telah diproduksi secara turun temurun sejak tahun 1940-an dengan skala industri rumah tangga (Sari dkk., 2013). Mie *letheke* dapat diolah menjadi mie kuah, mie nyemek maupun mie goreng tergantung dari selera konsumen. Mie *letheke* terbuat dari campuran tepung galek terfermentasi dan tapioka. Pemberian nama *letheke* ini dikarenakan warna mie yang dihasilkan keruh kecoklatan tidak secerah mie pada umumnya. Warna mie *letheke* tidak didapatkan dari penambahan zat pewarna melainkan warna alami dari pencampuran tepung galek terfermentasi dan tapioka. Secara fisik, tampilan *mie letheke* mirip dengan bihun namun ukuran diameternya lebih besar. Jika dibandingkan dengan mie dari terigu, *mie letheke* memiliki tekstur yang lebih kenyal.

Mie *letheke* memiliki keistimewaan maupun keunikan tersendiri, keunikan tersebut terdapat pada sifat atau karakteristik mie yang dihasilkan. Mie *letheke* memiliki sifat seperti mie yang berbahan dasar pati atau *starch noodle*. *Starch noodle* merupakan mie yang terbuat dari bahan non terigu yaitu pati. Proses gelatinisasi dan mekanisme retrogradasi sangat diandalkan dalam proses pembuatan mie yang terbuat dari bahan berpati untuk membentuk jaringan struktur mie yang kokoh (Tam dkk., 2004). Karakteristik mutu mie berbahan baku non terigu (*starch noodle*) yang baik akan tercapai apabila adonan tepung mengalami gelatinisasi, tekanan dan *shear stress* yang cukup (Charutigon dkk., 2007). Selain memiliki sifat mie yang unik, mie *letheke* juga memiliki alat dan proses produksi yang masih tradisional. Alat yang digunakan untuk pencampuran bahan menggunakan batu besar yang diputar dengan tenaga sapi sehingga

membuat proses pembuatan mie *letheke* menjadi unik. Pembuatan mie *letheke* diawali dengan fermentasi tepung gaplek sebagai bahan baku utamanya yang dibagi menjadi 2 tahap. Pembuatan mie *letheke* yang dilakukan oleh pengrajin mie *letheke* di Desa Bendo, Kecamatan Trimurti, Bantul, Yogyakarta selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Diagram alir pembuatan mie *letheke*

Pembuatan mie *letheke* terdiri dari beberapa tahapan, tahapan yang pertama yaitu fermentasi. Terdapat dua jenis fermentasi yang digunakan yaitu *submerged fermentation* dan *solid state fermentation*. Tahap fermentasi pertama yaitu *submerged fermentation*, tepung gaplek direndam dengan menggunakan air selama 2 hari. Hal ini bertujuan untuk merubah sifat fisik dan kimiawi tepung gaplek. Selama perendaman tepung gaplek, air rendaman dilakukan penggantian \pm 8 kali. Setelah dilakukan fermentasi selama 2 hari, tepung ditiriskan dalam karung dan didiamkan selama minimal 1 hari agar air fermentasi dan tepung gaplek terpisah, namun keadaan tepung masih tetap dalam kondisi basah atau dapat disebut dengan kondisi *solid state fermentation*. Tahapan kedua tepung gaplek yang telah difermentasi dicampur dengan tapioka, pencampuran dilakukan dengan menggunakan batu silinder besar seberat 1 ton yang diputar menggunakan tenaga

sapi. Tahapan ke tiga yaitu pemandatan dan pemotongan adonan yang tapiokan dan tepung galek terfermentasi menjadi bentuk dadu dengan ukuran ± 30 cm. Tahapan ke empat yaitu pengukusan diatas tungku. Setelah pengukusan, adonan akan dicampurkan kembali dengan tepung tapioka menggunakan batu besar dan tenaga sapi hingga kalis. Tahapan ke enam, adonan dicetak dalam bentuk mie. Keunikan dari tahapan pencetakan yaitu adonan mie tidak mudah putus dan bersifat elastis. Adonan berbentuk mie selanjutnya dikukus kembali dan didiamkan selama 1 malam dan keesokan harinya mie diuraikan dengan cara mencelupkan adonan mie kedalam air dan dipotong sesuai ukuran yang telah ditentukan. Tahapan yang terakhir yaitu pengeringan dengan menggunakan sinar matahari selama ± 9 jam apabila matahari terik, namun jika cuaca mendung maka dapat dilakukan pengeringan hingga memakan waktu 2 hari. Setelah penjemuran, mie *letheh* yang telah kering dikemas dengan plastik seberat 10 kg. Mie *letheh* dapat bertahan hingga 3 bulan bila disimpan dalam suhu ruang yang tidak lembab.

2.4 Jenis Mikroba yang Berperan dalam Fermentasi Karbohidrat

2.4.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri merupakan mikroorganisme yang hidup dengan ukuran sangat kecil. Mayoritas bakteri memiliki bentuk uniseluler, bakteri juga memiliki struktur sel yang sederhana yaitu tanpa inti sel dan organ lain seperti kloroplas dan mitokondria (Dwidoseputro, 2005). Bakteri berkembang biak dengan cara membelah diri, dimana satu sel tunggal akan membelah diri menjadi dua sel (Suprihatin, 2010). Bakteri memiliki berbagai macam jenis, salah satunya adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) yang mampu menghasilkan asam laktat.

Bakteri Asam laktat (BAL) termasuk dalam kelompok bakteri gram positif, memiliki sel berbentuk kokus, berbentuk rantai, tidak berspora, dapat tumbuh dengan kondisi anaerob fakultatif, bersifat non motil dan mesofil, tidak dapat bergerak dan termasuk dalam katalase negatif yang dapat memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan asam laktat (Ray, 2004). Bakteri Asam Laktat merupakan jenis bakteri yang dapat merubah karbohidrat menjadi asam laktat (Korhenen, 2010). Usmiati (2012) menambahkan bahwa Bakteri Asam Laktat

juga dapat menghasilkan diasetil, karbondioksida dan asetaldehid. Surono (2004) menambahkan bahwa senyawa lain yang dapat dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat diantaranya adalah asam organik, berbagai jenis vitamin dan asam folat. Beberapa jenis bakteri asam laktat yang dapat memproduksi bakteriosin adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* dan *Propionibacterium* yang terdapat didalam saluran pencernaan (Usmiati, 2012).

Bakteri asam laktat yang dapat memanfaatkan pati sebagai substratnya disebut dengan bakteri asam laktat amilolitik. Peran aktivitas bakteri asam laktat pada proses fermentasi bahan berpati akan mempengaruhi karakteristik produk. Pada umumnya bakteri asam laktat digunakan untuk memproduksi asam laktat, enzim spesifik, dan senyawa aromatik (Marcon dkk., 2006). Bakteri asam laktat dapat menghasilkan amilase ekstraseluler dan memfermentasi pati secara langsung menjadi asam laktat. Hal ini disebabkan fermentasi dengan Bakteri Asam Laktat amilolitik akan menggabungkan dua proses yaitu hidrolisis enzimatis substrat karbohidrat (pati) sekaligus fermentasi yang memanfaatkan gula yang dihasilkan menjadi asam laktat (Reddy dkk., 2008; Petrov dkk., 2008). Salah satu contoh fermentasi pati yaitu pada fermentasi MOCAF (*Modified cassava flour*). Pada fermentasi MOCAF, bakteri asam laktat yang digunakan dapat menghasilkan enzim pektinolitik dan sellulolitik yang dapat menghancurkan dinding sel pati, sehingga dapat memperbaiki sifat fisik dan kimiawi MOCAF (Subagio dkk., 2008). Menurut penelitian Frediansyah dkk., (2012), penggunaan *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan untuk fermentasi MOCAF. Selain *Lactobacillus plantarum*, terdapat beberapa bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan memecah pati yaitu *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracesai* (Petrova dkk., 2013).

Metabolisme bakteri asam laktat memiliki jalur fermentasi utama terhadap karbohidrat baik secara homofermentatif maupun heterofermentatif. Bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif menggunakan jalur glikolisis untuk memfermentasi glukosa dan menghasilkan dua molekul asam laktat, sedangkan

bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif akan menggunakan jalur fosfoglukonat atau fosfoketolase yang akan menghasilkan satu molekul asam laktat dan satu molekul etanol serta satu molekul karbondioksida (Reddy dkk., 2008). Contoh bakteri asam laktat yang menggunakan jalur homofermentatif yaitu *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, sedangkan yang menggunakan jalur heterofermentatif *Leuconostoc mesenteroides* (Axellson, 1998).

2.4.2 Kapang

Kapang adalah mikroorganisme bersel tunggal yang terdiri dari suatu thallus yang tersusun dari filamen bercabang yang disebut hifa (BSN, 2009). Hifa pada kapang memiliki lebar 5-10 μm (Coyne dan Mark, 1999). Kumpulan-kumpulan hifa disebut miselium yang berbentuk seperti kapas. Saat awal pertumbuhan miselium akan berwarna putih, namun apabila spora telah timbul maka akan terbentuk berbagai macam warna sesuai jenis kapang yang tumbuh (Ali, 2005).

Kapang dapat berkembang biak dengan berbagai cara yaitu seksual dan aseksual. Reproduksi kapang dengan cara aseksual dapat dilakukan dengan pembelahan diri, penguncupan atau pembentukan spora, sedangkan reproduksi secara seksual dilakukan dengan cara peleburan nukleus dari kedua induknya (Waluyo, 2004). Secara aseksual, kapang diproduksi dalam jumlah yang banyak, berukuran kecil dan ringan sehingga mudah beterbangan diudara, serta tahan terhadap keadaan kering. Apabila spora kapang berada pada substrat yang cocok sebagai media pertumbuhannya, maka spora tersebut akan tumbuh membentuk miselium baru (Fardiaz, 1992).

Berdasarkan beberapa penelitian, terdapat beberapa genus kapang yang dapat tumbuh pada tanah salah satunya *Aspergillus*. Kapang *Aspergillus* umum ditemukan pada tanah, namun terdapat beberapa yang diisolasi dari rizofir tanaman pertanian seperti ubi kayu, kentang, gandum, tebu, tomat, kopi, tebakau dan sebagainya (Samson dkk., 1984). Menurut penelitian Nadhifah dkk., (2016), terdapat 7 spesies kapang dengan 3 genus yang teridentifikasi dari rizosfer tanah pertanian tebu yaitu genus *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Trichoderma*. Selain ke tiga genus kapang tersebut, terdapat pula genus *Humicola* dan *Fusarium*

(Kristiana, 2015). Perbedaan genus maupun spesies kapang tergantung pada kondisi tanah dan jenis tanaman yang ada disekitarnya.

Kapang memerlukan beberapa faktor intrinsik untuk pertumbuhannya, seperti pH, suhu, kebutuhan air, nutrisi dan sebagainya. Kapang dapat tumbuh pada pH 2,0 - 9,0 (BSN, 2009) dengan kisaran suhu antara 25-30⁰C (Mursito, 2003). Selain pH dan suhu kapang dapat tumbuh optimum apabila Aw pada media pertumbuhan berkisar antara 0,6 -0,7 (Waluyo, 2004). Terdapat faktor utama untuk pertumbuhan kapang yaitu nutrisi. Nutrisi dibutuhkan untuk kehidupan dan perkembangannya, yaitu sebagai sumber karbon, sumber nitrogen, sumber energi serta sumber mineral dan vitamin yang dapat menghasilkan energi dan menyusun komponen-komponen sel. Kapang dapat memproduksi enzim hidrolitik seperti enzim amilase, proteinase, lipase dan pektinase, sehingga kapang dapat tumbuh pada media yang mengandung pati, protein, lipid dan pektin (Waluyo, 2004). Salah satu contoh fermentasi kapang pada media berpati yaitu fermentasi MOCAF. Menurut Gunawan dkk., (2015), bakteri asam laktat, kapang dan khamir dapat digunakan untuk fermentasi pembuatan MOCAF. Hal tersebut dipertegas oleh Tandrianto dkk., (2014), yang menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum*, *Sacharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oryzae* dapat digunakan dalam fermentasi MOCAF.

2.4.3 Khamir

Khamir (yeast) merupakan salah satu mikroba bersel tunggal, memiliki bentuk bulat hingga lonjong (BSN, 2009). Sel khamir memiliki ukuran diameter yang bervariasi yaitu antara 3-5 μ m. Bentuk dan ukuran sel khamir sangat bervariasi tergantung dari usia dan lingkungannya. Sel khamir dapat memperbanyak diri melalui pembentukan tunas (BSN, 2009). Khamir bereproduksi dengan cara membentuk tunas disebut dengan *budding* atau membelah yang disebut dengan *fission* atau campuran antara pertunasan dan pembelahan disebut dengan *bud-fission* (Suprihatin, 2010). Khamir dapat hidup dalam suasana aerob fakultatif maupun anaerob fakultatif.

Terdapat beberapa faktor intrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan khamir seperti nutrien, pH, suhu dan sebagainya. Khamir dapat tumbuh pada media yang mengandung karbohidrat, karbohidrat tersebut digunakan sebagai sumber energinya (Sugiyanti dkk., 2013). Selain pada media yang mengandung karbohidrat, khamir juga dapat tumbuh pada tanah. Menurut penelitian Jumiyati (2012), terdapat 5 genus khamir hasil isolasi tanah kebun wisata yaitu *Saccharomyces*, *Candida*, *Brettanomyces*, *Debaromyces* dan *Saccharomycodes*. Khamir dapat digunakan sebagai starter dalam fermentasi. Selama fermentasi sel khamir akan menghasilkan etanol sebagai metabolit primer dan asam-asam organik seperti asam tartarat, asam laktat, asam asetat, asam malat, asam sitrat, asam propionat dan asam butirat sebagai hasil sampingannya (Wignyanto dkk., 2001). Contoh fermentasi khamir pada media berpati yaitu fermentasi pada pembuatan MOCAF dan fermentasi pati ubi kayu. Menurut Tandrianto dkk., (2014), *Lactobacillus plantarum*, *Sacharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oryzae* dapat digunakan dalam fermentasi MOCAF. Selain MOCAF, dalam pembuatan pati ubi kayu terfermentasi juga dilakukan dengan menambahkan starter khamir. Berdasarkan penelitian Widyatmoko dkk., (2018), khamir hasil isolasi dari tapai (*Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon mucoides* dan *Saccharomycopsis fibuligera*) dapat digunakan sebagai starter pembuatan pati ubi kayu terfermentasi.

2.5 Tipe Fermentasi dalam Pembuatan Bahan Baku Mie *Lethek*

Fermentasi adalah proses perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Suprihatin, 2010). Selama proses fermentasi terdapat mikroba yang bekerja, baik dilakukan penambahan starter (fermentasi tidak spontan) maupun tidak dilakukan penambahan dalam proses pembuatannya (fermentasi spontan). Mikroba akan tumbuh dan berkembang secara aktif merubah bahan yang difermentasi (media fermentasi) menjadi produk yang diinginkan (Suprihatin, 2010). Fermentasi dapat dibagi menjadi dua tipe yaitu fermentasi dengan media padat atau *solid state*

fermentation (SSF) dan fermentasi dengan media cair dengan tambahan media padat/ substrat terendam atau *submerged fermentation*.

1. *Solid state fermentation* yaitu fermentasi yang berlangsung pada media padat dimana keadaan substrat tidak terlarut, namun mengandung air yang cukup (Dharma, 1992). Contoh fermentasi dengan media padat seperti fermentasi tape, kecap, tempe, oncom dan mie *letheke*. Tahap pembuatan mie *letheke* dimulai dengan fermentasi menggunakan dua tipe, salah satunya adalah *solid state fermentation* dengan cara meletakkan pasta tepung gablek ke dalam karung dan didamkan selama 24 jam.
2. *Submerged fermentation* yaitu fermentasi yang berlangsung pada media cair dengan tambahan media padat atau dengan kata lain substrat terendam. Contoh fermentasi dengan substrat terendam seperti ampok, MOCAF, pati ubi kayu terfermentasi dan mie *letheke*. Pembuatan MOCAF dilakukan dengan merendam chips singkong dengan air dan starter berupa bakteri asam laktat (Subagio dkk., 2008). Sedangkan pati ubi kayu terfermentasi dilakukan dengan cara merendam pati ubi kayu ke dalam air dengan perbandingan 1:2 dan ditambahkan starter berupa khamir (Widyatmoko dkk., 2018). Tahap awal pembuatan mie *letheke* adalah fermentasi tepung gablek dengan kondisi *submerged fermentation*. Tepung gablek direndam dengan air selama 48 jam.

2.6 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroorganisme

Kemampuan hidup dari suatu individu dalam sebuah persaingan antara individu maupun terhadap alam disebut dengan viabilitas (Nurkartika dkk, 2001). Kemampuan untuk menyesuaikan diri terhadap lingkungan sangat diperlukan untuk keberlangsungan pertumbuhannya. Mikroba akan tumbuh dengan baik jika kondisi lingkungan menguntungkan bagi aktivitas pertumbuhan dan mempertahankan diri. Menurut Pelczar and Chan (2005), terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba yaitu suhu, pH, aerasi, substrat dan Aw.

a. Suhu

Laju pertumbuhan dan jumlah total mikroba dipengaruhi oleh suhu, karena proses pertumbuhan mikroba bergantung pada reaksi kimia dan laju reaksi tersebut dipengaruhi oleh suhu. Saat berada pada suhu pertumbuhan optimal akan terjadi kecepatan pertumbuhan optimal dan dihasilkan jumlah sel yang maksimal (Sylvia, 2008). Suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri asam laktat berkisar antara 10-45°C (Khalid, 2011). Hal tersebut dipertegas oleh Tandrianto dkk., (2014), berdasarkan penelitiannya dalam fermentasi pembuatan MOCAF, *Lactobacillus plantarum* memasuki fase log pada suhu 30°C hingga 45°C. Selain bakteri asam laktat dilaporkan oleh Ingrid dkk., (2012) dalam penelitiannya yang menyatakan bahwa kapang *Aspergillus niger* dapat tumbuh optimum pada suhu 35°C hingga 37°C namun kapang ini juga dapat tumbuh pada suhu minimal 6°C hingga 8°C dan suhu maksimal 45°C hingga 47°C. Menurut penelitian Widyatmoko dkk., (2018), khamir *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon mucoides* dan *Saccharomycopsis fibuligera* hasil dari isolasi indigenus tapai dapat memfermentasi pati ubi kayu dengan suhu fermentasi 28°C.

b. pH

pH media berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba, kesesuaian pH dengan sifat mikroba akan mengoptimalkan aktivitas pertumbuhan atau laju pertumbuhan mikroba. Besarnya nilai pH berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang berfungsi sebagai pengkatalis berbagai reaksi. Kebanyakan spesies dapat tumbuh pada pH minimum sebesar 4 dan nilai pH maksimal sebesar 9 (Suriani dkk., 2013). Menurut Khalid (2011), bakteri asam laktat tumbuh optimum pada pH berkisar antara 5,5–5,8. Hal ini dipertegas oleh (pendukung BAL lainnya). Nilai pH pertumbuhan khamir berkisar antara 5 hingga 3. Menurut penelitian Wahono dkk., (2011), pertumbuhan khamir jenis *Saccharomyces cerevisiae* tumbuh optimum pada pH 4 atau asam. Selain itu, berdasarkan penelitian Widyatmoko dkk., (2018) khamir *Candida tropicalis* masih dapat tumbuh optimal pada pH 3,9. Selain pada bakteri asam laktat dan khamir, pH juga mempengaruhi pertumbuhan kapang. Menurut Waluyo (2004) kapang dapat tumbuh pada pH

2,0–8,5 namun pada umumnya kapang akan tumbuh dengan baik bila pHnya berada pada kondisi asam atau pH rendah. Hal ini didukung oleh penelitian Lei dkk., (1999), bahwa *Rhizopus oryzae* dapat tumbuh optimum pada pH 4,5.

c. Aerasi

Berdasarkan kebutuhan oksigennya bakteri dibagi mejadi 4 macam yaitu bakteri aerobik (mikroba yang membutuhkan oksigen), anaerobik (mikroba yang tumbuh tanpa molekul oksigen), anaerobik fakultatif (mikroba yang tumbuh pada keadaan aerobik dan anerobik) dan mikroaerofilik (mikroba yang tumbuh optimum bila ada sedikit oksigen atmosferik) (Pelczar and Chan, 2005). Banyaknya gas yang terdapat dalam media akan mempengaruhi aktifitas pertumbuhan mikroba. Gas yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba yaitu oksigen dan karbondioksida. Tujuan utama aerasi adalah memberikan oksigen yang cukup untuk kebutuhan metabolisme mikroorganismenya pada kultur terendam (Standbury and Whitaker, 1984).

d. Substrat

Substrat juga berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Substrat yang digunakan dalam proses fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas dan produktivitas enzim. Proses fermentasi terjadi karena adanya aktivitas mikroba dengan substrat organik yang sesuai (Khairil, 2008). Kecepatan pertumbuhan mikroba tergantung pada konsentrasi substrat. Pada umumnya mikroba sudah tumbuh pada konsentrasi substrat rendah dengan kecepatan maksimum. Menurut (Schlegel, 1994), kecepatan pertumbuhan tergantung pada konsentrasi substrat namun mikroba dapat tumbuh dalam konsentrasi substrat rendah.

Kandungan bahan organik dalam substrat dapat digunakan oleh mikroorganismenya dalam mobilitas sel, aktivitas transportasi molekul serta pemeliharaan struktur sel (Rahman, 1989). Menurut Irma (2015) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa adanya penambahan tepung singkong pada media dapat meningkatkan pertumbuhan kapang *Aspergillus niger* bila dilihat dari ukuran diameternya. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan pati yang

terdapat dalam media dapat mengoptimalkan pertumbuhan kapang (Irma, 2015). Pertumbuhan bakteri asam laktat bergantung pada ketersediaan substrat, sehingga hanya akan tumbuh pada media yang memiliki cukup gula karena bakteri asam laktat mendapatkan energi dari metabolisme gula ((Madigan dan Martinko, 2006). Menurut penelitian Ismail (2015), adanya penambahan tepung gaplek dalam proses fermentasi silase rumput gajah dapat meningkatkan kandungan asam laktat, artinya penambahan tepung gaplek dapat memberikan sumbangan karbohidrat terlarut dan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri asam laktat untuk memproduksi metabolit asam laktat. Pertumbuhan khamir juga bergantung pada ketersedian substrat berupa karbohidrat. Menurut Steele (2004) dan Sugiyanti dkk., (2013), kapang dan khamir menggunakan karbohidrat sebagai sumber energinya. Sumber energi terbaik adalah monosakarida dan disakarida (Manfaati, 2011), namun terdapat beberapa khamir yang dapat menghasilkan enzim selulase untuk mengurai polisakarida (Yusak, 2004).

e. Kandungan air

Setiap mikroba memerlukan kandungan air bebas tertentu untuk kebutuhan hidupnya. Biasanya kandungan air diukur dengan parameter A_w (*water activity*) atau kelembaban relatif. Mikroba umumnya dapat tumbuh pada A_w 0,998-0,6. Bakteri umumnya memerlukan a_w 0,90-0,999. Mikroba yang osmotoleran dapat hidup pada A_w terendah (0,6) misalnya *Saccharomyces rouxii*, *Aspergillus glaucus* dan jamur benang lain dapat tumbuh pada A_w 0,8. Selain itu *Aspergillus niger* juga dapat tumbuh pada aktivitas air yang rendah (Rahman, 1989). Bakteri umumnya memerlukan A_w atau kelembaban tinggi lebih dari 0,98, tetapi bakteri halofil hanya memerlukan A_w 0,75. Mikroba yang tahan kekeringan adalah yang dapat membentuk spora, konidia atau dapat membentuk kista.

Menurut Widyatmoko dkk., (2018), selama fermentasi pati ubi kayu, isolat khamir ditambahkan ke dalam tepung pati ubi kayu dan air dengan perbandingan 1:2. Hal tersebut menunjukkan bahwa khamir dapat tumbuh pada A_w yang tinggi. Selama fermentasi tersebut, khamir *Trichosporon mucoides* dapat tumbuh

optimum pada jam ke-24 sedangkan *Candida guilliermondii*, *Saccharomycopsis fibuligera*, dan *Candida tropicalis* dapat tumbuh optimum hingga jam ke-72.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Isolasi mikroba pada fermentasi spontan tepung gaplek dilakukan di Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY. Penelitian selanjutnya dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Biologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Mei sampai Agustus 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat pembuatan media, alat pengambilan sampel *slurry* maupun pasta tepung gaplek terfermentasi dan alat analisis. Peralatan yang digunakan untuk preparasi media dan pengambilan sampel *slurry* tepung gaplek terfermentasi meliputi *beaker glass* 1000 ml merk duran, erlenmeyer duran 500 ml, neraca analitik merk Ohaus, autoklaf merk Hirayama model HL36Ae, oven merk Memmert UN 55, spatula, *hot plate*, selang berdiameter 8mm, bunsen. Peralatan yang digunakan untuk isolasi mikroba dan analisis yaitu pH meter, buret, corong kaca merk pyrex, beaker glass 150 ml merk duran, termometer ruang merk one med, termometer, tabung reaksi merk pyrex, tabung ulir merk pyrex, erlemeyer 250 ml merk pyrex, cawan petri, pipet mikro, *blue tip*, *yellow tip*, labu ukur 1000 ml, labu ukur 100 ml merk pyrex dan bunsen.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tepung gaplek yang difermentasi di Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY. Bahan yang digunakan untuk analisis mikrobiologi yaitu PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Merck), MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) (Merck), CaCO₃, Aquades steril, NaCl. Bahan

yang digunakan untuk analisis kimia meliputi indikator PP, larutan buffer pH 4 dan pH 7, larutan penetrasi NaOH 0,10 N, aquades dan alkohol 70%.

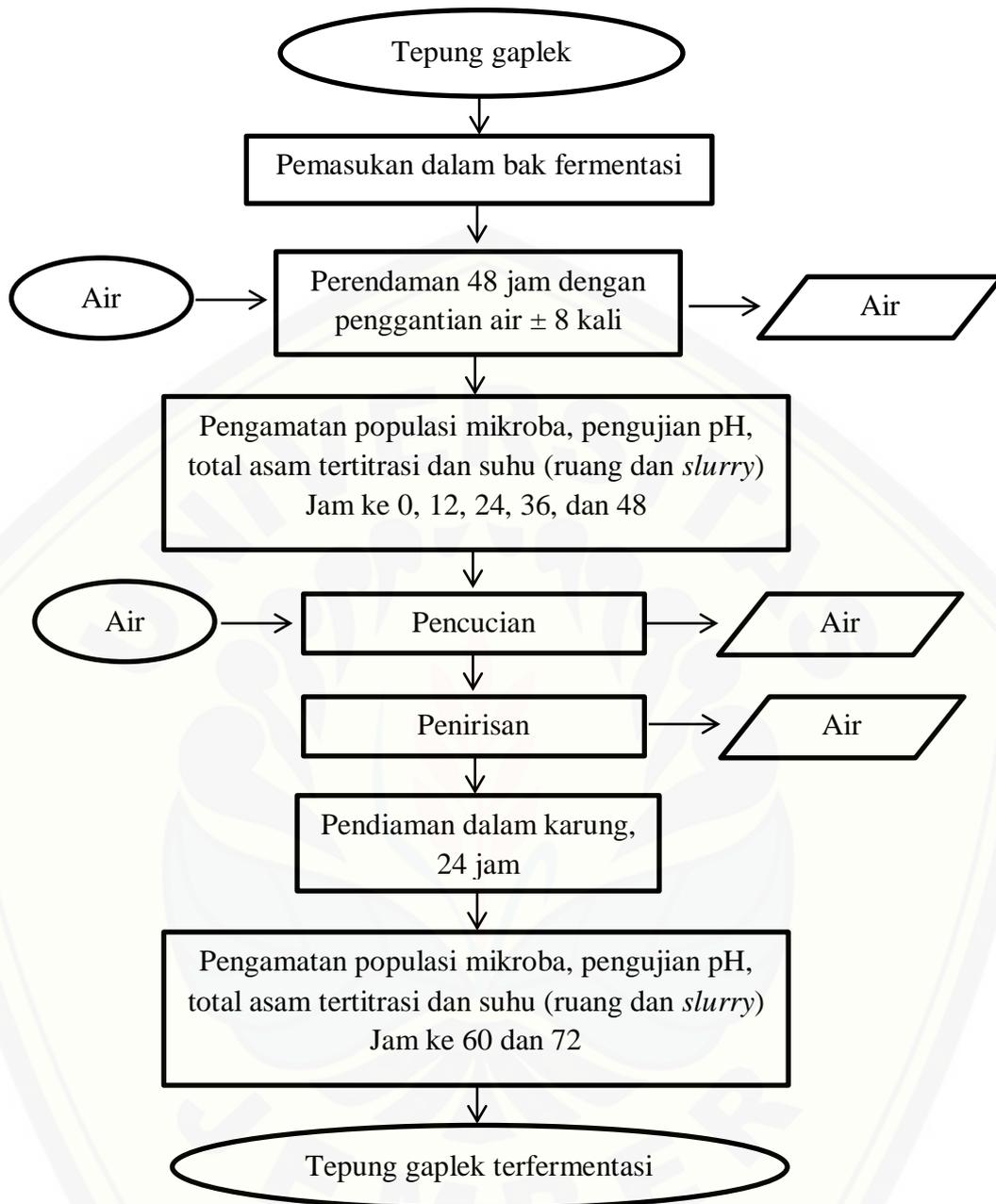
3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu perbedaan lama fermentasi dengan tujuh taraf yaitu 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam dan 72 jam. Tepung gaplek direndam selama dua hari (*submerged fermentation*) dan ditiriskan selama satu hari (*solid state fermentation*). Setiap perlakuan dilakukan dua kali pengulangan.

3.3.2 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini terdiri dari 4 tahap yaitu pembuatan tepung gaplek terfermentasi spontan, pembuatan media, isolasi mikroorganisme dari tepung gaplek terfermentasi dan pengamatan dengan beberapa parameter. Parameter yang diamati meliputi uji mikrobiologis, uji kimiawi dan uji fisik. Diagram alir tahap penelitian pengujian *slurry* maupun pasta tepung gaplek dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Tahapan penelitian

3.3.3 Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Media

Proses pembuatan media diawali dengan penimbangan MRSA (*Demam Rogosa Sharpe Agar*), PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan CaCO_3 . Pada pembuatan media MRSA, dilakukan pemasukan media MRSA kedalam erlenmeyer berisi

aquades yang telah dipanaskan menggunakan hot plate dan diaduk menggunakan magnet stirrer hingga homogen dan dilakukan penambahan CaCO_3 . Sedangkan pada pembuatan media PDA, dilakukan penuangan media PDA pada aquades yang telah dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah media dan aquades homogen, media dimasukkan kedalam autoklaf untuk disterilisasi dengan suhu 121°C , tekanan 1 atm dan dibiarkan selama 15 menit (Hadioetomo, 1985).

b. Pasta tepung gaplek terfermentasi

Tahapan proses pembuatan tepung gaplek terfermentasi dilakukan beberapa tahapan proses, pada tahapan yang pertama tepung gaplek dilakukan perendaman dengan menggunakan air dengan perbandingan tepung dan air sebesar 1 : 2 tujuan dilakukannya perendaman yaitu untuk mendapatkan kondisi anaerob fakultatif selama proses fermentasi. Perendaman ini dilakukan selama 2 hari dimana perharinya dilakukan pergantian air sebanyak 8 kali. Kemudian tepung ditiriskan dan diletakkan didalam karung dengan kondisi terbuka selama satu hari. Perendaman selama satu hari dalam karung berfungsi untuk melanjutkan fermentasi yang sedang terjadi. Setelah perendaman tersebut maka dihasilkan tepung gaplek terfermentasi.

c. Pengambilan sampel tepung gaplek

Pengambilan sampel tepung gaplek dilakukan dengan menggunakan selang yang berdiameter 8 mm. Sebelum digunakan, selang dibilas dengan alkohol 70%. Selang dimasukkan ke dalam *slurry* hingga kedalaman ± 1 meter, kemudian ujung selang ditutup menggunakan ibu jari. *Slurry* yang terdapat dalam selang diletakkan kedalam erlenmeyer steril. Saat pemasukan *slurry*, bunsen diletakkan disebelah erlenmeyer untuk mencegah kontaminasi.

d. Isolasi mikroorganismenya

Sampel yang digunakan meliputi tepung gaplek saat mulai fermentasi hingga selesai. Sampel berupa *slurry* tepung gaplek sebanyak 5 ml ditera menggunakan larutan garam fisiologis sebanyak 45 ml dan dihomogenisasi

menjadi 10^{-1} . Setelah homogen, sampel diencerkan secara bertingkat. Pengenceran 10^{-2} dilakukan dengan cara pengambilan 1 ml isolat yang telah diencerkan pada pengenceran 10^{-1} dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades. Pengenceran ini dilakukan hingga pengenceran ke 10^{-8} (Hadioetomo, 1985).

Isolasi mikroba dilakukan dengan menggunakan media spesifik PDA dan MRSA- CaCO_3 . Isolasi mikroorganisme dari sampel dilakukan dengan teknik *pour plate* serta replikasi duplo. Sebanyak 1 mL suspensi hasil pengenceran sampel dituang pada media agar yang masih cair dan diratakan. Cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 2 hari untuk uji angka bakteri asam laktat dan 3 hari untuk uji kapang dan khamir.

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi tiga parameter yaitu mikrobiologis, kimiawi dan fisik. Parameter mikrobiologis yang dilakukan yaitu uji angka bakteri asam laktat (Fardiaz, 1992) serta uji angka kapang dan khamir (Badan Standarisasi Nasional, 1992). Parameter kimia dan fisik yang dilakukan meliputi uji pH (Sudarmadji, 1997), uji total asam tertitrasi (Sudarmadji, 1997) dan uji suhu fermentasi.

3.5 Prosedur Analisa

3.5.1 Uji angka Bakteri Asam Laktat (Fardiaz, 1992).

Perhitungan jumlah koloni mikroba mengacu pada metode perhitungan menurut Fardiaz (1992). Tahap awal pengujian yaitu pengambilan *slurry* maupun pasta tepung gaplek menggunakan selang berukuran 8mm dan diletakkan dalam erlenmeyer steril 250 ml. Tahap selanjutnya, *slurry* maupun pasta tepung gaplek dilakukan pengenceran bertingkat. Hasil pengenceran bertingkat (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian media MRSA- CaCO_3 dituang kedalamnya (*pour-plate method*). Setelah media agar memadat, cawan petri diinkubasi dalam kondisi anaerobik pada suhu ruang selama 48 jam. Setelah inkubasi selama 48 jam, dihitung populasi bakteri asam laktat yang menunjukkan jumlah koloni antara 30-300 koloni/cawan. Pengamatan

dilakukan pada koloni yang memiliki zona bening disekitarnya. Kemudian dihitung dengan rumus:

Koloni per ml atau per gram = Jumlah Koloni per Cawan x Faktor Pengenceran

3.5.2 Uji Angka Kapang dan Khamir (Badan Standarisasi Nasional, 1992)

Perhitungan jumlah kapang dan khamir mengacu pada peraturan yang telah ditetapkan Badan Standarisasi Nasional (1992). Tahap pengujian ini serupa dengan pengujian bakteri asam laktat yaitu pengambilan sampel dengan selang berukuran 8 mm, dilakukan pengenceran bertingkat dan diletakan kedalam cawan petri. Pengujian kapang dan khamir dilakukan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Setelah agar memadat, cawan petri diinkubasi selama 72 jam dengan suhu ruang. Pengamatan dan perhitungan dilakukan pada cawan petri dengan jumlah koloni yang tumbuh sebanyak 10-150 koloni. Metode SNI 01-2897-1992 menyebutkan bahwa pengujian kapang dan khamir menggunakan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari. Kapang yang diamati dan dihitung memiliki ciri-ciri seperti kapas atau terdapat kumpulan bulu-bulu halus (miselium), sedangkan khamir yang dihitung memiliki ciri-ciri berbentuk bulat hingga lonjong. Rumus perhitungan yang digunakan serupa dengan rumus perhitungan uji angka Bakteri Asam Laktat.

3.5.3 Uji pH (Sudarmadji, 1997)

Pengujian pH selama fermentasi dilakukan dengan menggunakan pH meter. Sampel sebanyak 10 ml dilarutkan dalam aquades sebanyak 50 ml dan dihomogenkan. pH meter dikalibrasi dengan menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7 yang kemudian dibersihkan dengan aquades dan dapat dilakukan pengukuran pH pada sampel.

3.5.4 Uji Total Asam Laktat Titrasi (Sudarmadji, 1997)

Pengujian ini dilakukan dengan cara meletakkan sampel sebanyak 10 ml dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan dan disaring. Filtrat diambil sebanyak 25 ml dan diletakkan dalam

erlemeyer. Pentitrasi dilakukan dengan menambahkan larutan indikator *Phenolptalin* (PP) sebanyak 2-3 tetes dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga warna berubah menjadi merah muda dan warna tidak kembali dalam 30 detik. Kemudian dihitung nilai total asam tertitrasi dengan rumus

$$\% \text{ total asam} = \frac{mL \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times Mr \text{ as.laktat} \times FP}{\text{Berat Bahan (g)} \times 1000} \times 100 \%$$

Keterangan :

N NaOH = Normalitas NaOH = 0,1 N

FP = Faktor pengenceran = 4

Mr asam laktat = 90

3.5.5 Uji Suhu Fermentasi

Pengujian suhu fermentasi ruang dan *slurry* dilakukan menggunakan termometer. Pengujian suhu *slurry* dilakukan dengan cara memasukkan termometer kedalam *slurry* tepung galek sekitar 2-3 menit pada posisi reservoir dengan kedalaman 15 cm, kemudian amati hingga tidak terjadi perubahan posisi alkohol dan skala angka yang tertera pada termometer. Pengujian suhu ruang dilakukan dengan cara meletakkan termometer disekitar bak fermentasi dan tunggu hingga 2-3 menit, amati hingga tidak terjadi perubahan posisi alkohol dan skala yang tertera pada termometer.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengujian ini yaitu angka mikroba, pH, total asam laktat tertitrasi dan suhu pada tepung galek terfermentasi spontan. Data tersebut dianalisis menggunakan metode deskriptif. Penyajian data dilakukan dalam bentuk tabel dan grafik.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Semakin lama fermentasi maka jumlah bakteri asam laktat, khamir dan kapang juga meningkat. Jumlah bakteri asam laktat jam ke-0 sebesar 5,60 log cfu/mL dan pada jam ke-72 sebesar 9,70 log cfu/mL. Jumlah kapang pada jam ke-0 sebesar 5,06 log cfu/mL dan pada jam ke-72 menjadi 8,26 log cfu/mL. Sedangkan jumlah khamir pada jam ke-0 sebesar 5,34 log cfu/mL dan pada jam ke-72 menjadi 8,60 log cfu/mL.
2. Semakin lama fermentasi maka jumlah mikroba semakin meningkat sehingga nilai pH semakin menurun dan nilai total asam semakin meningkat. Nilai pH pada jam ke-0 sebesar 5,75 menjadi 3,55 pada jam ke-72. Sedangkan nilai total asam pada jam ke-0 sebesar 0,102% menjadi 0,312% pada jam ke-72.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini yaitu perlu adanya pengujian lebih lanjut tentang identifikasi kapang dan khamir. Hal ini diperlukan guna mengetahui jenis kapang dan khamir yang berperan dalam fermentasi spontan tepung gaplek termasuk dalam jenis yang menghasilkan toksin atau tidak.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidoo, KE., MJR. Nout, dan PK. Sarkar. 2006. Occurrence and Function of Yeasts in Asian Indigenous Fermented Foods. *FEMS Yeast Research*, 6 (1): 30–39.
- Ali, A. 2005. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*. Makasar: State University of Makasar Press.
- Bachrudin, Z., Astuti dan Y. S. Dewi. 2000. Isolasi dan Seleksi Mikroba Penghasil Laktat dan Aplikasinya Pada Fermentasi Limbah Industri Tahu. *Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi*. Mikrobiologi Enzim dan Bioteknologi.
- Badan Pusat Statistik. 2016. *Luas Panen, Produktivitas, Dan Produksi Tanaman Pangan Menurut Provinsi (Dinamis)*. <http://www.bps.go.id/webbeta/frontend/site/pilihdata>. Diakses 07 Juni 2017.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN) . 2009. *Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan (SNI 7388:2009)*. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN) . 2015. *Cara Uji Mikrobiologi - Bagian 7: Perhitungan Kapang dan Khamir Pada Produk Makanan (SNI 2332.7:2015)*. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 1992. *Syarat Mutu dan Cara Uji Biskuit*. Jakarta
- Benedict R.,P. 1987. *Fundamentals of Temperature, Pressure, and Flow Measurements*, 3rd ed, ISBN 0-471-89383-8 page 4
- Bourdichon, F., S. Casaregola, C. Farrokh, JC. Frisvad, ML. Gerds, WP. Hammes, dan J.Harnett. 2012. Food Fermentations: Microorganisms with Technological Beneficial Use. *International Journal of Food Microbiology*. 154 (3): 87–97.
- Budiyanto, M. A. K. 2003. *Mikrobiologi Terapan*. Malang: UMM Press
- Carrau, F., C. Gaggero, dan PS. Aguilar. 2015. Yeast Diversity and Native Vigor for Flavor Phenotypes. *Trends in Biotechnology*. 33 (3): 1-7.
- Charutigon C., Jintana J., Pimjai N., dan Vilai R. 2007. *Effects of processing conditions and the use of modified starch and monoglyceride on some properties of extruded rice vermicelli*. Swiss Society of F Sci Tech 41: 642-651

- Coyne, S., dan Mark. 1999. *Soil Microbiology: An Exploratory Approach*. USA: Delmar Publisher.
- Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan Indonesia. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Pangan*. Jakarta: Bharata Karya Aksara.
- Dwidoseputro, D. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djamanat, Jakarta.
- Elias, M. G., Wieczorek, S., Rosanne, D., S., dan Tawfil. 2014. The Universality Of Enzymatic Rate Temperature Dependency. *Trends Biochem. Sci.* 39:1-7. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2013.11.001>
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Ferdiansyah, A., Kurniadi, M., Hikmat, A. N., dan Susanto, A. 2012. Improving Quality of Mocaf (Modified Cassava Flour) by Bioprocess using *Lactobacillus plantarum* and Its Utility for Foodstuff. *Proceeding of International Seminar Enhancing Grassroots Onnovation Competitiveness for Poverty Alleviation (EGICPA)*. Yogyakarta-Indonesia.
- Frazier, W. C., dan Westhoff D. C. 1978. *Food Microbiology*. Tata Mc Graw – Hill Book Publ. Co. Ltd. , New Delhi.
- Gunawan, S., Widjaja, T., Zullaikah, S., Ernawati, L., Istianah, N., Aparamarta, H. W., dan Prasetyoko, D. 2015. Effect of Fermenting Cassava With *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Rhizopus oryzae* On The Chemical Composition Of Their Flour. *International Food Research Journal*. 22(3): 1280-1287.
- Hadioetomo, R. S. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: PT Gramedia.
- Haryani, Kristinah. 2011. Studi Kinetika Pertumbuhan *Aspergillus Niger* pada Fermentasi Asam Sitrat dari Kulit Nanas dalam Reaktor Air-Lift External Loop. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. *Jurnal momentum vol.7*. Semarang.
- Holt, J. G., Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, dan Stanley T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: Lippincott William and Wilkins.
- Iqbal, A. 2008. *Biologi Dasar Dunia Ilmu*. Jakarta
- Irma. 2015. Optimasi Media Pertumbuhan *Aspergillus niger* Dengan Menggunakan Tepung Singkong. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Ulauddin Makassar. Makassar.

- Irzam, F. N., dan Harijono. 2014. Pengaruh pergantian air dan penggunaan NaHCO₃ Dalam Perendaman Ubi Kayu Iris (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Kadar Sianida Pada Pengolahan Ubi Kayu. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.2 No.4 p.188-199. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya Malang.
- Islamiyati, D. 2013. Peran Tepung Singkong Pada Kualitas Mie Sayur. *Skripsi*. Surabaya. Universitas Pembangunan Nasional "Veteran".
- Ismail Jasin. 2015. Pengaruh Penamabahan Tepung Gaplek dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi PO Terhadap Kualitas Silase Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*). Fakultas Peternakan Universitas Darul Ulum Islamic Centre Sudirman GUPPI. *Jurnal Agripet Vol 15*.
- Jespersen, L. 2003. Occurrence and Taxonomic Characteristics of Strains of *Saccharomyces cerevisiae* Predominant in African Indigenous Fermented Foods and Beverages. *FEMS Yeast Research*. 3: 191-200.
- Jumiyati, Bintari S. H., dan Mubarak I. 2012. Isolasi dan Identifikasi Khamir Secara Morfologi di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Jurnal of Biology and Biology Education (biosantifika 4 (1))*. Universitas Negeri Semarang.
- Khalid, K. 2011. An Overview of Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Biosciences (IJB)*. 1 (3): 1-13.
- Korhonen, J. 2010. *Forestry and Natural Sciences: Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria*. University of Eastern Finland.
- Kristiana R. 2015. Keragaman Kapang Pada Tanah Rizosfer Tanaman Tomat Di Lahan Pertanian Konvensional. *Jurnal Faktor Exacta 8 (1)*. Hlm 67-74. ISSN: 1979-276X.
- Lala F. H., Susilo B., dan Komar N. 2013. Karakteristik Mie Instan Berbahan Baku Tepung Terigu dengan Substitusi Mocaf. *Jurnal Bioproses Komoditi Tropis Vol 1. No 2*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Lei, V., Amoa-Awua, W. K. A. dan Brimer, L. 1999. Degradation of cynogenic glycosides by *Lactobacillus plantarum* strain from spontaneous cassava fermentation and other microorganisms. *International Journal of Food and Microbiology* 53: 169–184.
- Manfaati, R. 2011. Pengaruh Komposisi Media Fermentasi Terhadap Produksi Asam Sitrat Oleh *Aspergillus niger*. *Jurnal Fluida*. 7 (1) : 23-27.
- Marcon, L., Hales, B.F., dan Robaire, B. 2006. Effects of Chemotherapeutic Agents for Testicular Cancer on the Male Rat Reproductive System, Spermatozoa, and Fertility. *Journal of Andrology*, No. 2: 189-200

- Martono, Y., Lucia, D. D., dan Sri Hartini. 2016. Pengaruh Fermentasi Terhadap Kandungan Protein Dan Asam Amino Pada Tepung Gaplek Yang Difortifikasi Tepung Kedelai (*Glycine Max(L)*). Program Studi Kimia, Fakultas Sains Dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana. *Jurnal Agritech* vol. 36
- Misgiyarta, Suismini dan Suyanti. 2009. Tepung Kasava Bimo Kian Prospektif. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 31(4): 1-4.
- Mossel, D. A. A., J. E. L. Corry, C. B. Struijk dan R. M. Baird. 1995. *Essentials of The Microbiology of Foods: a Textbook for Advanced Studies*. England: John Wiley and Sons.
- Mursito, B. 2003. *Ramuan Tradisional Untuk Pelangsing Tubuh*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nadhifah Y. M., Hastuti U. S., dan Syamsuri I. 2016. Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Mikroflora dari Rizofe Tanah Pertanian Tebu (*Saccharum Officinarum L.*) Sebagai Bahan Ajar Kingdom Fungi Untuk Siswa Kelas X SMA. *Jurnal Pendidikan, Vol. 1 no 10*. Hlm 2023-2030.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2007. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, M.J; dan E. C. S. Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-press.
- Petrov, K., Z. Urshev, dan P. Petrova. 2008. L(+)-Lactic Acid Production From Starch By A Novel Amylolytic *Lactococcus lactis subsp. Lactic B84*. *Food Mikrobiology*.
- Petrova, P., Petrov, K., dan Stoyancheva, G. 2013. *Starch-Modifying enzymes of lactic acid bacteria-structures, properties, and application*. *Starch/Starke*. 65(1-2): 34-47.
- Pranayanti, I. A. P., dan Sutisno, A. 2015. Pembuatan Minuman Probiotik Air Kelapa Muda (*Cocos nucifera L.*) dengan Starter *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Jurnal pangan dan agroindustri vol 3*. Malang.
- Pratiwi, Sylvia, T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga Medical Series, Yogyakarta.
- Purnomo, B. 2004. *Bahan Kuliah Dasar-Dasar Mikrobiologi*. http://bpurnomo.byethost32.com/MATERI_files/mikrobiologi_4.pdf?i=1. Diakses 06 Juni 2017.
- Rahman, Ansori. 1989. *Teknologi Fermentasi*. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.

- Ray, B. 2004. *Fundamental Food Microbiology*. Third Edition. New York: CRC Press.
- Reddy, S., 2008. *Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics*, 2nd ed, Jaypee, New Delhi, h. 126-134.
- Retnowati, P. A., dan K. Joni. 2014. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) Dengan Isolat *Lactobacillus casei* Dan *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.2 No.2 p.70-81. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya Malang.
- Samson R. A., Ellen S. H., dan Connie A. N. V.O.1984. *Introduction to Food-Borne Fungi*. Delft: Central Bureau Vool Schimmel Cultures.
- Sari, W. P., Umniyati, S., Rakhmawati, A., dan Astuti. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Air Rendaman Tahap I Dalam Proses Pembuatan Mie *Lethek*. *Jurnal Biologi*. Vol 3(1): 2-5
- Sharah, A., R. Karnila dan Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Ikan Peda Kembang (*Rastrelliger* sp.).
- Soetanto, N. Edy. 2008. Tepung Cassava dan Olahannya. Kanisius : Yogyakarta. <http://books.google.co.id/books?id=eESIFL20XsQC&pg=PA12&dq=tepung+gaplek&lr=&ei=y5UDS7ahF5nUkgSSltXnDg&client=firea#v=onepage&q=nutrisi%20komposisi%20tepung%20gaplek&f=false>. Di akses 06 juni 2017
- Steele, E. 2004. *Understanding and Measuring The Shelf-life of Food*. Woodhead Publishing Limited. Abington.
- Subagio, A., Windrati, W., Witono, Y., dan Fahmi, F. 2008. *Produksi Operasi Standar (POS): Produksi Mocal Berbasis Klaster*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
- Sudarmaji, S., B. Haryonodan E. Suhardi. 1997. *Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian* Edisi Keempat. Liberty. Yogyakarta.
- Sugiyanti, Suparwi dan Sutardi, T. R. 2013. Fermentasi Limbah Soun Dengan *Aspergillus niger* Ditinjau Dari Kecernaan Bahan Kering Dan Kecernaan Bahan Organik Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. **1** (3) : 881-888.
- Sulusi P., Nur, R., dan Suismono. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan Dan Diversifikasi Pangan*. Jakarta.
- Sumarsih. 2003. *Mikrobiologi dasar*. Yogyakarta: UPN Veteran.

- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: UNESA Pres.
- Surono, I. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, No.2 : 46. Jakarta: PT. Zitri Cipta Karya.
- Surono, I. S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: PT. Tri Cipta Karya (TRICK).
- Susinggih, W., Irnia N., dan Erlina H. 2009. Analisis Kelayakam Kualitas Tapioka Berbahan Baku Gaplek (Pengaruh Asal Gaplek Dan Kadar Kaporit Yang Digunakan). *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol 10 no 2. Universitas Brawijaya. Malang.
- Tam, L. M., Corke H., Tan W.T., Ji T., dan Collado L.S. 2004. *Production of bihon-type noodles from maize starch differing in amylose content*. *Cereal cheam* 82(4): 475-480
- Tandrianto, J., Mintoko, D. K., dan Gunawan, S. 2014. Pengaruh Fermentasi pada Pembuatan Mocaf (*Modified Cassava Flour*) dengan Menggunakan *Lactobacillus plantarum* terhadap Kandungan Protein. *Jurnal Teknik Pomits*. 3(2) :143-145.
- Theron, M. M., dan Lues, J. F. R. 2011. *Organic Acid and Food Preservation*. United States: CRC Press. hlm 273.
- Usmiati, Sri dan Risfaheri. 2012. Pengembangan Dadih Sebagai Pangan Fungsional Probiotik Asli Sumatera Barat. *J. Litbang Pert*.
- Wahono S, K., Ema D., Vita T, R., dan Evi I, S. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* Pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol Dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L.). *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press.
- Widyatmoko, H., Subagio, A., dan Nurhayati, N. 2018. Sifat-sifat fisikokimia pati ubi kayu terfermentasi Khamir indigenus tapai. *Jurnal agritech*. 38(2): 140-150.
- Wignyanto, Suharjo, dan Novita. 2001. Pengaruh Konsentrasi Gula Reduksi Sari Hati Nanas dan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* Pada Fermentasi Etanol. *Jurnal Teknologi Pertanian* (2) 1: 68-77.
- Yuliana, N. 2007. *Pengolahan Durian (Durio zibethinus) Fermentasi (Tempoyak)*. *Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*12 (2).

Yusak, Y., 2004. Pengaruh Suhu Dan pH Buffer Asetat Terhadap Hidrolisis CMC Oleh Enzim Selulase Dari Ekstrak *Aspergillus niger* Dalam Media Campuran Onggok Dan Dedak. *Jurnal Sains Kimia*. 8 (2) : 34-37.



LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Tabel Analisis Populasi Bakteri Asam Laktat Selama Fermentasi

Hari	Jam Ke-	Ulangan cfu/mL		Ulangan (log cfu/mL)		Rata-rata (log cfu/mL)	SD
		1	2	1	2		
1	0	$3,45 \times 10^5$	$4,65 \times 10^5$	5,54	5,67	5,60	0,092
	12	$6,05 \times 10^8$	$6,03 \times 10^8$	8,78	8,80	8,79	0,012
	24	$1,75 \times 10^9$	$1,62 \times 10^9$	9,24	9,21	9,23	0,025
2	36	$4,00 \times 10^9$	$4,70 \times 10^9$	9,60	9,67	9,64	0,049
	48	$6,10 \times 10^9$	$7,00 \times 10^9$	9,79	9,85	9,82	0,042
3	60	$5,25 \times 10^9$	$5,30 \times 10^9$	9,72	9,72	9,72	0,003
	72	$4,95 \times 10^9$	$5,10 \times 10^9$	9,69	9,71	9,70	0,009

Lampiran 4.2 Tabel Analisis Populasi Kapang Selama Fermentasi

Hari	Jam Ke-	Ulangan cfu/mL		Ulangan (log cfu/mL)		Rata-rata (log cfu/mL)	SD
		1	2	1	2		
1	0	$1,20 \times 10^5$	$1,10 \times 10^5$	5,04	5,08	5,06	0,027
	12	$1,60 \times 10^6$	$1,90 \times 10^6$	6,20	6,28	6,24	0,053
	24	$1,10 \times 10^7$	$1,05 \times 10^7$	7,04	7,02	7,03	0,014
2	36	$1,60 \times 10^7$	$1,50 \times 10^7$	7,20	7,18	7,19	0,020
	48	$1,70 \times 10^7$	$1,65 \times 10^7$	7,23	7,22	7,22	0,009
3	60	$1,05 \times 10^8$	$1,00 \times 10^8$	8,02	8,00	8,01	0,015
	72	$1,75 \times 10^8$	$1,90 \times 10^8$	8,24	8,28	8,26	0,025

Lampiran 4.3 Tabel Analisis Populasi Khamir Selama Fermentasi

Hari	Jam Ke-	Ulangan cfu/mL		Ulangan (log cfu/mL)		Rata-rata (log cfu/mL)	SD
		1	2	1	2		
1	0	$2,45 \times 10^5$	$1,95 \times 10^5$	5,39	5,29	5,34	0,070
	12	$1,90 \times 10^6$	$1,75 \times 10^6$	6,28	6,24	6,26	0,025
	24	$4,50 \times 10^7$	$4,25 \times 10^7$	7,65	7,63	7,64	0,018
2	36	$2,50 \times 10^8$	$2,00 \times 10^8$	8,40	8,30	8,35	0,069
	48	$4,95 \times 10^8$	$4,25 \times 10^8$	8,70	8,63	8,66	0,047
3	60	$4,15 \times 10^8$	$4,25 \times 10^8$	8,62	8,63	8,62	0,007
	72	$3,90 \times 10^8$	$4,00 \times 10^8$	8,60	8,60	8,60	0,008

Lampiran 4.4 Tabel Analisis pH Tepung Gaplek Selama Fermentasi

Hari	Jam Ke-	Ulangan		Rata-rata	SD
		1	2		
1	0	5,8	5,7	5,75	0,071
	12	4,4	4,1	4,25	0,212
	24	4,0	3,8	3,90	0,141
2	36	3,7	3,6	3,65	0,071
	48	3,6	3,5	3,55	0,071
3	60	3,8	3,7	3,75	0,071
	72	3,6	3,5	3,55	0,071

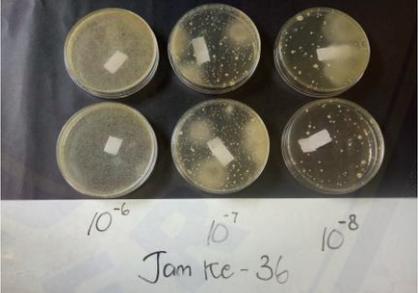
Lampiran 4.5 Tabel Analisis Total Asam Laktat Selama Fermentasi

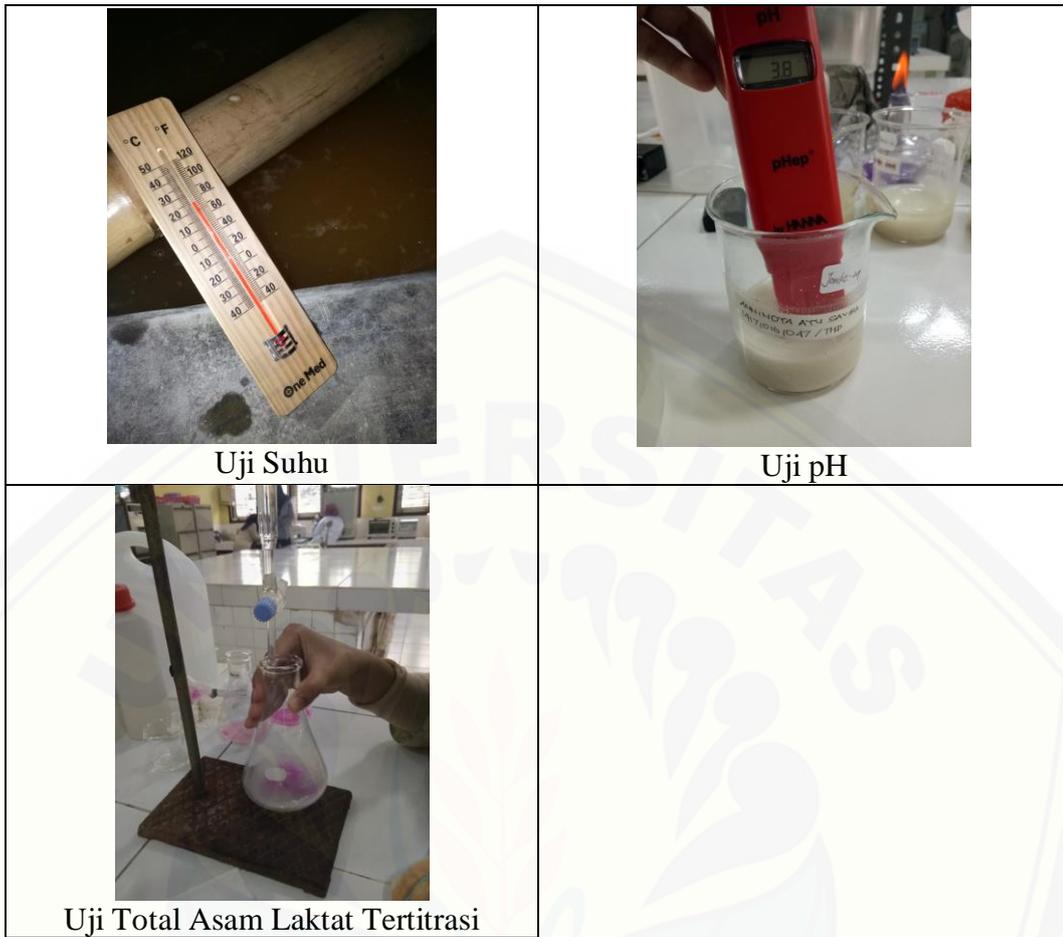
Hari	Jam Ke-	Ulangan		Rata-rata	SD
		1	2		
1	0	0,096	0,108	0,102	0,008
	12	0,156	0,168	0,162	0,008
	24	0,252	0,264	0,258	0,008
2	36	0,336	0,348	0,342	0,008
	48	0,360	0,348	0,354	0,008
3	60	0,312	0,324	0,318	0,008
	72	0,300	0,324	0,312	0,017

Lampiran 4.6 Tabel Analisis Suhu Ruang Dan Suhu *Slurry* Selama Fermentasi

Hari	Jam Ke-	Waktu Pengujian (WIB)	Suhu <i>Slurry</i>		Suhu Ruang	
			Suhu ($^{\circ}$ C)	Rata-rata	Suhu ($^{\circ}$ C)	Rata-rata
1	0	09.00	30	30	26	26
			30		26	
	12	20.00	28	28	24	24
			28		24	
	24	09.00	28	28	27	27
			28		27	
2	36	20.00	28	28	28	28
			28		28	
	48	09.00	28	28	28	28
			28		28	
3	60	20.00	29	29	26	26
			29		26	
	72	09.00	29	29	28	28
			29		28	

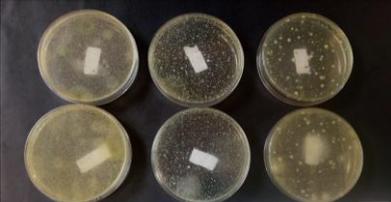
LAMPIRAN GAMBAR

 <p>Pembuatan Media</p>	 <p>Pembuatan Larutan Fisiologis</p>
 <p>Pembuatan Pasta Tepung Gaplek Terfermentasi</p>	 <p>Isolasi Mikroba</p>
 <p>Inkubasi pada Suhu Ruang</p>	 <p>Perhitungan Jumlah Mikroba</p>



Gambar Hasil Pengamatan

Pengamatan jam ke-	Mikroba	
	Bakteri Asam Laktat	Kapang dan Khamir
0		
12		

Pengamatan jam ke-	Mikroba					
	Bakteri Asam Laktat			Kapang dan Khamir		
24						
36						
48						
60						
72						