

## Potensi Limbah Cair Industri Tapioka sebagai Media Pertumbuhan Starter Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* E.1222

### The Potency of Industrial Tapioca Wastewater as Growth Media for Lactic Acid Bacteria *Pediococcus pentosaceus* E.1222

RAHAYU WULAN<sup>1</sup>, ANJA MERYANDINI<sup>1\*</sup>, TITI CANDRA SUNARTI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

Diterima 6 Oktober 2017 /Disetujui 13 November 2017

Fermentation of Lactic Acid Bacteria (LAB) *Pediococcus pentosaceus* can improve the quality of food and its shelflife. Using commercial LAB specific media, *de Man Rogosa and Sharpe* (MRS) for growth on industrial scale application is not efficient. Tapioca wastewater (TW) still contains some of the nutrients needed for the growth of *P. pentosaceus*, but needs the enrichment of carbon sources (5% of glucose) and nitrogen sources (ammonium sulphate). This study aimed to use tapioca industrial wastewater with the addition of glucose and ammonium sulphate as an alternative growth media for lactic acid bacteria *P. pentosaceus* E.1222. The results showed that glucose and nitrogen had no significant effect on the number of bacterial colony. The highest substrate efficiency was tapioca wastewater (86.81%), MRS broth (53.73%), and TW with 5% of glucose and 1% of ammonium sulphate (43.53%) respectively. Maximum growth rate ( $\mu_{maks}$ ) was found in TW with 5% of glucose and 1% of ammonium sulphate (0,52 hours<sup>-1</sup>). Increasing the starter volume until 1000 mL in TW with 5% of glucose and 1% of ammonium sulphate showed a slight decrease in the log number of bacteria from 8,836 (50 mL), 8,401 (500 mL), to 8,063 (1000 mL).

Key words: lactic acid bacteria, tapioca wastewater, carbon source, nitrogen source

#### PENDAHULUAN

Industri fermentasi bahan pangan merupakan prospek bisnis yang terus dikembangkan. Fermentasi dapat memperbaiki mutu dan daya simpan bahan pangan. Proses fermentasi bahan pangan membutuhkan kultur starter agar hasil fermentasi seragam. Kultur starter merupakan mikroorganisme yang digunakan untuk mempercepat dan mengarahkan proses fermentasi. Kelompok BAL mayoritas digunakan sebagai kultur starter. BAL dapat mempercepat proses pengasaman bahan makanan melalui produksi asam laktat serta dapat memperbaiki tekstur, rasa, dan aroma dari bahan pangan (Leroy dan Vuyst 2004). *Pediococcus pentosaceus* merupakan BAL potensial yang digunakan dalam fermentasi tepung jagung dan kimchi (Rosyidah *et al.* 2013; Jang *et al.* 2014).

BAL merupakan bakteri yang membutuhkan nutrisi yang kompleks. Media *de Man Rogose and Sharpe* (MRS) merupakan media pertumbuhan spesifik bagi BAL, namun memiliki harga yang relatif mahal. Pemilihan media alternatif starter yang

berharga murah dan baik untuk pertumbuhan starter dapat mengurangi biaya produksi dalam industri fermentasi. Salah satu media alternatif yang dapat digunakan untuk menumbuhkan BAL yaitu limbah cair tapioka (*fruit water*) yang masih mengandung nutrisi karbohidrat, nitrogen, fosfat, dan mineral yang menunjang pertumbuhan BAL. Penelitian Coelho *et al.* (2010) mengungkapkan bahwa limbah cair tapioka dapat digunakan sebagai media bakteri asam laktat *Lactobacillus rhamnosus* untuk meningkatkan produksi asam laktat L(+).

Bahan baku fermentasi biasanya mempunyai nutrisi yang kurang sehingga harus diberi zat stimulan seperti karbohidrat, asam amino, asam lemak, vitamin, dan mineral (Lindgren dan Dobrogosz 1990). Penambahan sumber karbon dan sumber nitrogen pada limbah cair tapioka diperlukan untuk menambah nutrisi media. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa glukosa dan amonium sulfat (ZA) merupakan sumber karbon dan sumber nitrogen yang paling baik bagi pertumbuhan *P. pentosaceus* E.1222 pada media whey tahu (Yeni *et al.* 2016; Safitri *et al.* 2016).

*P. pentosaceus* juga dapat digunakan sebagai kultur starter dalam fermentasi tapioka asam sehingga dapat memperbaiki kualitas tepung tapioka (Rembulan *et al.* 2015). Penggunaan limbah cair tapioka dalam

\*Penulis korespondensi:

E-mail: ameryandini@yahoo.com

pengembangan kultur starter dalam fermentasi tepung tapioka merupakan langkah strategis industri tapioka. Langkah tersebut dapat menghasilkan tepung tapioka yang aman dan berkualitas, mengurangi biaya produksi, sekaligus menanggulangi limbah dalam industri tapioka. Pengembangan kultur starter *P. pentosaceus* juga dapat diarahkan pada komersialisasi kultur starter. Isolat *P. pentosaceus* E.1222 merupakan starter yang berkualitas sehingga nantinya dapat dijadikan kultur starter padat dengan proses enkapsulasi sehingga dapat diperjualbelikan. Penelitian ini bertujuan memanfaatkan limbah cair industri tapioka yang diperkaya dengan penambahan glukosa dan amonium sulfat sebagai media alternatif starter bakteri asam laktat *P. pentosaceus* E.1222.

## BAHAN DAN METODE

**Bahan Penelitian.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolat bakteri *P. pentosaceus* E.1222, limbah cair tapioka, media *de Man Rogose and Sharpe* (MRS), *whey* tahu, agar-agar, glukosa, amonium sulfat (ZA), fenol 5%, asam sulfat pekat, gliserol, NaCl, NaOH, dan indikator fenolftalein.

**Karakterisasi Limbah Cair Tapioka.** Limbah cair tapioka disiapkan dengan cara; sebanyak satu kg ubi kayu yang telah dikupas ditambahkan akuades sebanyak 1 L, kemudian dihaluskan. Ubi kayu yang telah halus diperas dan disaring dengan menggunakan kain. Air hasil penyaringan diendapkan selama 6 jam sehingga cairan terpisah menjadi endapan pati dan limbah cair tapioka (*fruit water*). Limbah cair tapioka (*fruit water*) dianalisis karakteristik komponen penyusunnya yang meliputi kadar air (BSN 1990), total padatan (TS), TDS (*Total Dissolved Solid*), TSS (*Total Suspended Solid*) (BSN 2004), derajat keasaman (pH) (BSN 2004), total gula (metode Fenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Dubois *et al.* 1956), total C-organik (Walkley dan Black 1993), dan kadar protein (total N) (Bradstreet 1954).

**Peremajaan dan Penyiapan Inokulum.** Inokulum disiapkan dengan cara kultur stok bakteri *P. pentosaceus* pada agar miring hasil peremajaan usia 24 jam diambil sebanyak 1 ose, kemudian inokulum diinokulasikan ke dalam 10 mL media cair MRS steril dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Sebanyak 1 mL *P. pentosaceus* diinokulasikan kedalam 9 mL media MRS *broth* steril pada tabung ulir dan diinkubasi pada suhu 37°C sampai fase logaritmik tertinggi (4-5 jam fermentasi). Penentuan fase logaritmik berdasarkan hasil pengukuran OD = 0.8 ( $\lambda = 600$  nm) dan jumlah koloni ( $10^8$  log CFU/mL) dengan metode *total plate count* (TPC). Inokulum siap digunakan dalam percobaan pengaruh sumber karbon dan nitrogen.

**Formulasi Media untuk Produksi Starter.** Formulasi media ditentukan berdasarkan pemilihan sumber karbon dan sumber nitrogen terbaik pada

penelitian Yeni *et al.* (2016) dan Safitri *et al.* (2016) yaitu glukosa dan amonium sulfat (ZA).

**Analisis C/N Rasio.** Analisis rasio C/N dilakukan dengan menganalisis kadar C-organik dan kadar N total pada media. Analisis komponen C dalam sampel dilakukan dengan metode Walkley dan Black (1993), sedangkan analisis komponen N dalam sampel dilakukan dengan metode Kjeldahl (Bradstreet 1954). Analisis ini dilakukan oleh jasa analisis di Laboratorium Kimia Terpadu (IPB).

**Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen.** Percobaan ini terdiri atas 6 perlakuan dengan 2 kali ulangan, sebagai berikut:

- Perlakuan 1: media Limbah Cair Tapioka (LCT) tanpa suplementasi  
 Perlakuan 2: media LCT+glukosa 5% (b/v)+amonium sulfat (ZA) 1% (b/v)  
 Perlakuan 3: media LCT+glukosa 5% (b/v)+amonium sulfat (ZA) 2% (b/v)  
 Perlakuan 4: media LCT+glukosa 5% (b/v)+amonium sulfat (ZA) 3% (b/v)  
 Perlakuan 5: media *whey* tahu (WT)+glukosa 5% (b/v)+amonium sulfat (ZA) 1% (b/v) (kontrol)  
 Perlakuan 6 : media MRS *broth* (kontrol)

Semua media yang digunakan sebelumnya disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C. Percobaan dilakukan menggunakan botol Duran 100 mL dengan volume kerja 50 mL. Media diinokulasi dengan 1% (v/v) (500  $\mu$ L) bakteri *P. pentosaceus* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan BAL diamati pada jam ke-24. Parameter yang diamati antara lain jumlah koloni bakteri dengan metode TPC, nilai total gula, nilai total asam tertitrisasi (BSN 2004), pH dan parameter kinetika ( $Y_{p/s}$  dan  $Y_{x/s}$ ). Parameter utama yang digunakan sebagai dasar untuk metode tahap selanjutnya adalah perlakuan media yang mempunyai efisiensi substrat ( $\Delta S/S$ ) dan jumlah BAL tertinggi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

**Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri.** Berdasarkan pemilihan pada media limbah cair tapioka pada tahap sebelumnya, maka media LCT dan LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1% dipilih menjadi media pertumbuhan bakteri yang terbaik. Kurva pertumbuhan bakteri *P. pentosaceus* dibuat pada botol Duran 100 mL dengan volume kerja 50 mL. Media pertumbuhan diinokulasi dengan 1% (v/v) (500  $\mu$ L) bakteri *P. pentosaceus* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengamatan jumlah koloni bakteri dilakukan pada jam ke 0, 2, 4, 6, 9, 12, 24, 36, dan 48 dengan metode TPC. Parameter utama yang digunakan sebagai dasar untuk metode tahap selanjutnya adalah perlakuan media yang mempunyai  $\mu$  maks tertinggi. Tahap penelitian ini juga menentukan waktu panen kultur pada saat fase eksponensial.

**Peningkatan Skala Produksi.** Peningkatan skala media dilakukan dengan cara *cascade* (bertahap) menggunakan formulasi media terbaik hasil penelitian tahap sebelumnya yaitu LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1%. Percobaan dilakukan pada skala media 50 mL, 500 mL, dan 1000 mL dengan 2 kali ulangan. Media yang digunakan terlebih dahulu disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C menggunakan autoklaf. Media diinokulasi dengan 1% (v/v) bakteri *P. pentosaceus* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 4 jam. Pengamatan jumlah koloni bakteri dilakukan pada jam ke-4 dengan metode TPC. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

## HASIL

**Karakteristik Limbah Cair Tapioka.** Komponen penyusun limbah cair tapioka yang meliputi kadar air, total padatan (TS), TDS (*Total Dissolved Solid*), TSS (*Total Suspended Solid*), derajat keasaman (pH), total gula, total C-organik, dan kadar protein (total N) disajikan pada Tabel 1.

**Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen.** Rasio C/N merupakan perbandingan antara jumlah kandungan unsur karbon (C) terhadap kandungan unsur nitrogen (N) yang ada pada suatu bahan. Berdasarkan Tabel 2, media pertumbuhan yang mempunyai rasio C/N tertinggi adalah limbah cair tapioka tanpa suplementasi, sedangkan rasio C/N terendah terdapat pada media MRS. Nilai Total C-organik mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi amonium sulfat yang ditambahkan.

Pengaruh perbedaan media terhadap parameter kinetika pertumbuhan bakteri *P. pentosaceus* disajikan pada Tabel 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah diinkubasi selama 24 jam jumlah BAL (log CFU/mL) pada media limbah cair tapioka tanpa dan dengan suplementasi berbeda nyata dengan jumlah BAL pada media MRS. Akan tetapi, jumlah BAL pada media limbah cair tapioka tanpa dan dengan

suplementasi tidak berbeda nyata dengan jumlah BAL pada media *whey* tahu. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh penambahan glukosa dan amonium sulfat tidak berpengaruh terhadap jumlah BAL. Media limbah cair tapioka tanpa suplementasi memiliki jumlah BAL tertinggi dibandingkan dengan media limbah cair tapioka dengan suplementasi dan media *whey* tahu (Tabel 3).

Kinetika pertumbuhan bakteri yang diukur meliputi *Growth yield* ( $Y_{x/s}$ ), *product yield* ( $Y_{p/s}$ ), dan efisiensi substrat. *Growth yield* ( $Y_{x/s}$ ) adalah hasil bagi antara jumlah biomassa dengan substrat. Nilai  $Y_{x/s}$  tertinggi terdapat pada media LCT tanpa suplementasi 1,933 CFU/mg. *Product yield* ( $Y_{p/s}$ ) menunjukkan banyaknya nutrisi atau substrat yang digunakan oleh bakteri untuk membentuk produk. Produk dalam penelitian ini adalah asam laktat. Berdasarkan hasil penelitian nilai  $Y_{p/s}$  tertinggi bakteri *P. pentosaceus* terdapat pada media MRS yaitu 2,337 mg produk/

Tabel 1. Karakteristik limbah cair tapioka

Karakteristik	Jumlah
Kadar air	96.25% (% b/b)
Ph	6.28
Total padatan ( <i>Total Solid</i> )	35.51 g/L
TDS ( <i>Total Dissolved Solid</i> )	34.00 g/L
TSS ( <i>Total Suspended Solid</i> )	1.51 g/L
Total gula	34.04 g/L
Total C-organik	14.2 g/L
Kadar Protein (Total N)	0.10 g/L
Rasio C/N	14.27

Tabel 2. Rasio C/N media pertumbuhan

Jenis media	Total C-organik	Kadar protein (total N)	Rasio C/N
Limbah Cair Tapioka (LCT)	1.42	0.10	14.27
LCT + glukosa 5% + amonium sulfat 1%	2.28	0.26	9.07
LCT + glukosa 5% + amonium sulfat 2%	4.13	0.47	8.80
LCT + glukosa 5% + amonium sulfat 3%	5.77	0.67	8.69
WT + glukosa 5% + amonium sulfat 1%	3.18	0.28	11.36
Media MRS <i>broth</i>	2.82	0.34	8.29

Tabel 3. Pengaruh perbedaan media terhadap parameter kinetika pertumbuhan bakteri *P. pentosaceus*

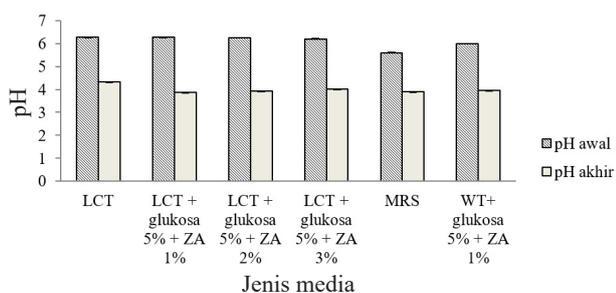
Jenis media	N (log CFU/mL)	Total asam akhir (mg/mL)	$Y_{x/s}$ (CFU/mg)	$Y_{p/s}$ (mg produk/mg substrat)	% efisiensi substrat ( $\Delta S/S$ )
Limbah Cair Tapioka (LCT)	8,661 <sup>a</sup>	3,600 <sup>a</sup>	1,933	0,804	86,81%
LCT + glukosa 5% + amonium sulfat 1%	8,362 <sup>a</sup>	7,313 <sup>c</sup>	0,196	0,171	43,53%
LCT + glukosa 5% + amonium sulfat 2%	8,231 <sup>a</sup>	8,213 <sup>d</sup>	0,141	0,141	9,89%
LCT + glukosa 5% + amonium sulfat 3%	8,576 <sup>a</sup>	9,000 <sup>e</sup>	0,195	0,205	31,08%
WT + glukosa 5% + amonium sulfat 1%	8,308 <sup>a</sup>	4,725 <sup>b</sup>	0,203	0,115	19,18%
Media MRS	9,501 <sup>b</sup>	16,988 <sup>f</sup>	1,307	2,337	53,73%

Keterangan: N (Jumlah bakteri),  $Y_{x/s}$  (*Growth yield*),  $Y_{p/s}$  (*Product yield*), efisiensi substrat ( $\Delta S/S$  konsumsi pemakaian glukosa); superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan signifikansi nyata ( $P \leq 0,05$ )

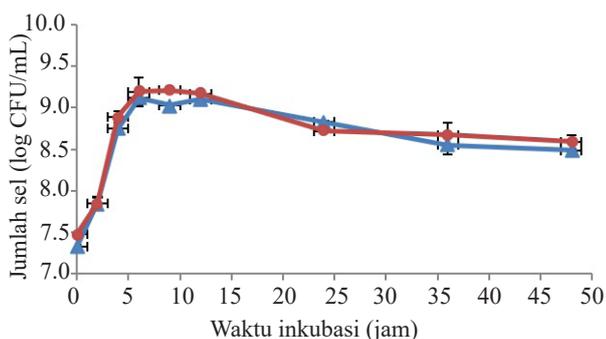
mg substrat, kemudian berturut-turut media LCT dan LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 3%. Persentase efisiensi substrat menunjukkan banyaknya gula yang digunakan oleh bakteri hingga akhir fermentasi. Nilai efisiensi substrat yang tertinggi terdapat pada media LCT tanpa suplementasi yaitu 86.31%, kemudian diikuti media MRS sebesar 53.73%, dan media LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1% sebesar 43.53%. Berdasarkan tingginya nilai efisiensi substrat maka media yang digunakan dalam tahap selanjutnya yaitu media LCT tanpa suplementasi dan media LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1%.

Pada akhir fermentasi, media pertumbuhan akan mengalami penurunan akibat produksi asam dari BAL. Berdasarkan pada Gambar 1, pH awal media limbah cair tapioka yang digunakan berkisar antara 6.21-6.28. pH media limbah cair tapioka di akhir fermentasi berkisar antara 3.93-4.33 (Gambar 1).

**Kurva Pertumbuhan Bakteri *P. pentosaceus* E.1222.** Fase pertumbuhan bakteri dibagi menjadi empat, yaitu fase penyesuaian (lag), fase pertumbuhan maksimal (logaritmik/eksponensial), fase stasioner, dan diakhiri dengan fase kematian. Pada penelitian ini tidak ditemukan fase lag. Hasil penelitian menunjukkan fase logaritmik pada kedua media berlangsung dari jam ke-0 sampai jam ke-6. Fase stasioner terjadi mulai jam ke-6 sampai jam ke-48 waktu inkubasi (Gambar 2). Fase stasioner terjadi mulai jam ke-6 sampai jam ke-48 waktu inkubasi (Gambar 2). Terjadi sedikit penurunan jumlah BAL pada saat fase stasioner. Tidak terdapat fase kematian pada kurva pertumbuhan penelitian ini. Tidak terdapat



Gambar 1. Pengaruh media pertumbuhan terhadap pH media setelah inkubasi 24 jam



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri *P. pentosaceus* E.1222 pada media limbah cair tapioka (—▲—), yang disuplementasi dengan glukosa 5% dan amonium sulfat 1% (—●—)

fase kematian pada kurva pertumbuhan penelitian ini.

Pertumbuhan bakteri pada masing-masing media memiliki  $\mu_{maks}$  yang berbeda.  $\mu_{maks}$  merupakan laju pertumbuhan maksimum bakteri pada selang waktu tertentu. Berdasarkan Tabel 4,  $\mu_{maks}$  yang terdapat pada media LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1% sebesar 0.52 jam<sup>-1</sup>, lebih tinggi dibandingkan nilai  $\mu_{maks}$  pada media LCT tanpa suplementasi sebesar 0.45 jam<sup>-1</sup>. Nilai  $N_{maks}$  merupakan jumlah maksimal bakteri *P. pentosaceus* E.1222 dalam masa inkubasi 48 jam. Nilai  $N_{maks}$  media LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1% memiliki nilai yang lebih tinggi (9.21 log CFU/mL) dibandingkan dengan nilai  $N_{maks}$  media LCT tanpa suplementasi (9.12 log CFU/mL).

**Peningkatan Skala Produksi Starter.**

Peningkatan skala produksi starter dilakukan pada volume kerja 50 mL, 500 mL, dan 1000 mL secara bertahap (*cascade*). Waktu inkubasi yang digunakan yaitu 4 jam, karena bakteri berada di tengah-tengah fase logaritmik. Diharapkan inkubasi selama 4 jam dapat menghasilkan jumlah sel yang tinggi.

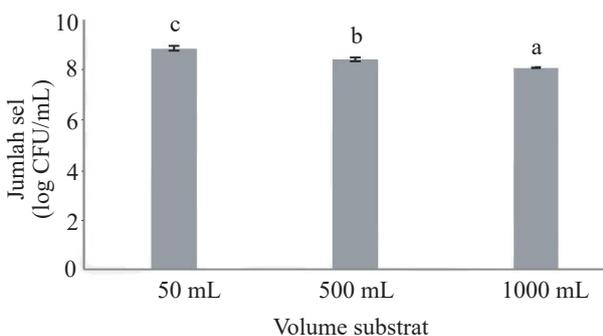
Perbedaan skala produksi starter memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah BAL yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seiring dengan peningkatan skala produksi starter jumlah sel bakteri mengalami penurunan sedikit demi sedikit dari 8,836 log CFU/mL (50 mL), kemudian menjadi 8,401 log CFU/mL (500 mL), dan menjadi 8,063 log CFU/mL (1000 mL) (Gambar 3).

**Pengaruh Rasio C/N terhadap Pertumbuhan Bakteri *P. pentosaceus* E.1222.**

Berdasarkan variasi rasio C/N yang digunakan pada tahapan ini, dapat dilihat pengaruhnya terhadap jumlah biomassa, dan nilai total asam.

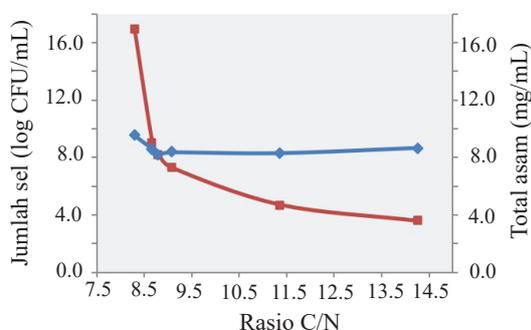
Tabel 4. Pertumbuhan bakteri pada media LCT dan media LCT dengan suplemntasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1%

Jenis media	$N_{maks}$ (log CFU/mL)	$\mu_{maks}$ (jam <sup>-1</sup> )
Limbah Cair Tapioka	9.12	0.45
Limbah Cair Tapioka+glukosa 5%+amonium sulfat (ZA) 1%	9.21	0.52



Gambar 3. Jumlah bakteri *P. pentosaceus* pada skala produksi starter yang berbeda pada media LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1%

Nilai rasio C/N media pertumbuhan *P. pediococcus* pada penelitian ini berkisar antara 8.3–14.3. Rasio C/N tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah sel bakteri, tetapi berpengaruh nyata terhadap produksi total asam. Semakin tinggi rasio C/N, total produksi asam menjadi semakin rendah (Gambar 4).



Gambar 4. Grafik hubungan rasio C/N media terhadap jumlah sel bakteri (—◆—) dan total asam (—■—)

## PEMBAHASAN

*Fruit water* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan limbah cair tapioka yang berada di atas sedimen pati ubi kayu (tapioka) pada saat proses pengendapan pati ubi kayu. Nilai total padatan terlarut (TDS) memiliki nilai yang hampir sama dengan nilai total gula. Hal tersebut menunjukkan bahwa padatan yang terlarut merupakan gula yang terlarut. Setelah dilakukan sterilisasi media pada suhu 121°C selama 15 menit, terbentuk endapan pada limbah cair tapioka. Kemungkinan endapan tersebut merupakan sisa pati yang tertinggal pada saat ekstraksi pati, protein yang terdenaturasi akibat pemanasan, dan serat yang sebelum sterilisasi terlarut dalam limbah cair tapioka (Coelho *et al.* 2010).

BAL membutuhkan nutrisi yang kompleks untuk pertumbuhannya. Penelitian Yeni *et al.* (2016) menyatakan bahwa glukosa merupakan sumber *P. pentosaceus* E.1222 pada media *whey* tahu. Nancib *et al.* 2001 mengungkapkan bahwa sumber nitrogen menggunakan kombinasi dari ekstrak khamir dan sumber nitrogen berharga murah,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (amonium sulfat) dapat meningkatkan produksi asam laktat dan biomassa *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. Penambahan sumber karbon dan sumber nitrogen bertujuan untuk menunjang pertumbuhan BAL. Hasil penelitian menunjukkan media MRS masih menjadi media pertumbuhan terbaik bagi *P. pentosaceus*. Jumlah BAL yang dihasilkan pada media MRS yaitu 9,501 log CFU/mL. Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Safitri *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa jumlah BAL di media MRS pada jam ke-24 yaitu 9,383 log CFU/mL. Media MRS merupakan media pertumbuhan yang didesain khusus untuk mengoptimalkan pertumbuhan *Lactobacillus* dan golongan bakteri asam laktat (De Man *et al.* 1960).

Kinetika pertumbuhan bakteri merupakan hubungan antara pertumbuhan biomassa, penggunaan

substrat, dan produk yang dihasilkan (Sharma dan Mishra 2014). Semakin tinggi nilai  $Y_{x/s}$  menunjukkan efisiensi substrat yang digunakan untuk membentuk biomassa juga tinggi. *Product yield* ( $Y_{p/s}$ ) menunjukkan banyaknya nutrisi atau substrat yang digunakan oleh bakteri untuk membentuk produk. Akumulasi produk asam laktat dapat meningkatkan aktivitas antimikroba pada produk hasil fermentasi (Lindgren dan Dobrogosz 1990). Semakin tinggi nilai  $Y_{p/s}$  berarti nilai efisiensi penggunaan substrat membentuk produk semakin tinggi. Nilai  $Y_{p/s}$  yang lebih rendah dibandingkan dengan  $Y_{x/s}$  menunjukkan bahwa mayoritas gula yang dikonsumsi digunakan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel dibandingkan untuk pembentukan produk asam laktat (Yeni *et al.* 2016). Nilai  $Y_{p/s}$  yang lebih rendah dibandingkan dengan  $Y_{x/s}$  terdapat pada media LCT tanpa suplementasi. Nilai efisiensi substrat yang tertinggi terdapat pada media LCT tanpa suplementasi yaitu 86.31%, kemudian diikuti media MRS sebesar 53.73%, dan media LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1% sebesar 43.53%.

pH media merupakan salah satu syarat yang penting bagi pertumbuhan bakteri. pH awal media limbah cair tapioka yang digunakan berkisar antara 6.21-6.28. Kisaran ini masih terletak dibawah 6.5. Menurut De Man *et al.* (1960), pertumbuhan bakteri asam laktat akan baik apabila pH media kurang dari 6.5. Selain itu juga bakteri *P. pentosaceus* masih optimal tumbuh pada pH 5 (Bagenda *et al.* 2008). Fermentasi asam laktat idealnya dilakukan pada kondisi asam. Ketika kondisi media pertumbuhan memiliki pH tinggi, sebagian piruvat dioksidasi menjadi asetil KoA dan format. Asetil KoA kemudian tereduksi menjadi asetat dan etanol, sehingga produk yang dihasilkan adalah asetat dan etanol bukan asam laktat (Purwoko 2009).

pH akhir media limbah cair tapioka berkisar antara 3.93-4.33. Penurunan pH disebabkan oleh ion  $\text{H}^+$  yang berasal dari perombakan senyawa asam hasil metabolisme bakteri asam laktat. Penurunan pH media juga dapat disebabkan oleh terurainya  $\text{NH}_4^+$  menjadi  $\text{NH}_3$  dan  $\text{H}^+$ . Oleh karena itu penambahan amonium sulfat atau  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  memberikan pengaruh terhadap pH media. Ketika pH media menurun maka pertumbuhan sel, konsumsi glukosa, dan produksi asam laktat juga menurun secara signifikan. Oleh karena itu, fermentasi asam laktat lebih bagus jika dilakukan menggunakan BAL yang toleran terhadap pH rendah (Liu *et al.* 2013).

Jumlah populasi bakteri *P. pentosaceus* pada media LCT dan LCT dengan suplementasi dengan glukosa 5% dan amonium sulfat 1% menunjukkan peningkatan sejalan dengan meningkatnya waktu fermentasi dan mempunyai pola pertumbuhan yang hampir sama. Pada penelitian ini tidak ditemukan fase lag karena isolat yang digunakan telah diremajakan pada media yang sama. Setelah fase lag berakhir

kemudian memasuki fase logaritmik (eksponensial). Fase logaritmik yaitu fase pada saat bakteri membelah dengan cepat dan konstan. Kecepatan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti, pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembapan (Yuliana 2008).

Hasil penelitian menunjukkan fase logaritmik pada kedua media berlangsung dari jam ke-0 sampai jam ke-6. Hal ini sesuai dengan penelitian Safitri *et al.* (2016) yang mengungkapkan bakteri pada semua media *whhey* tahu dan MRS *broth* memasuki fase akhir logaritmik pada jam ke-6 inkubasi. Saat memasuki fase stasioner, jumlah biomassa menjadi maksimal, jumlah sel cenderung stabil, dan pertumbuhan bakteri berhenti. Fase stasioner terjadi mulai jam ke-6 sampai jam ke-48 waktu. Terjadi sedikit penurunan jumlah BAL yang disebabkan oleh akumulasi produk asam laktat sehingga menurunkan pH media pada saat fase stasioner. Tidak terdapat fase kematian pada kurva pertumbuhan penelitian ini. Bakteri akan menunjukkan perbedaan pola pertumbuhan periode waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh maupun beradaptasi, dan metabolit yang dihasilkan bergantung pada media pertumbuhannya (Yuliana 2008). Media LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1% mempunyai  $\mu_{maks}$  dan  $N_{maks}$  lebih tinggi dibandingkan media LCT tanpa suplementasi. Berdasarkan hasil tersebut LCT dengan suplementasi glukosa 5% dan amonium sulfat 1% merupakan media terbaik bagi pertumbuhan BAL *P. pentosaceus*.

Perbedaan skala produksi starter memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah BAL yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Yeni *et al.* (216) yang menyatakan bahwa jumlah BAL pada skala 500 mL berbeda nyata dengan jumlah BAL pada skala 1000 mL. Penurunan jumlah bakteri ini dikarenakan semakin besar volume fermentasi maka aerasi semakin rendah sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam skala industri fermentasi produksi mikroba yang bersifat aerob biasanya dilakukan menggunakan bioreaktor yang dilengkapi dengan pengadukan untuk meningkatkan aerasi media (Ochoa dan Gomes 2009). *Pediococcus pentosaceus* bersifat mikroaerofil sehingga pengadukan kultur dilakukan secara pelan dan tidak menimbulkan busa di permukaan. Di samping untuk meningkatkan aerasi, pengadukan juga bertujuan mengatur homogenisasi nutrisi dan mencegah pengendapan pada media.

Rasio C/N merupakan salah satu faktor penting dalam media pertumbuhan bakteri (Widarti *et al.* 2015). Karbon dan nitrogen merupakan unsur penting yang dibutuhkan oleh bakteri dalam aktivitas hidupnya. Seharusnya nilai total C-organik pada media limbah cair tapioka yang disuplementasi dengan glukosa 5% mempunyai nilai yang sama. Akan tetapi, pada penelitian ini nilai total C-organik diantara

media limbah cair tapioka yang disuplementasi dengan glukosa 5% mempunyai nilai yang berbeda. Perbedaan tersebut dikarenakan oleh adanya reaksi Maillard pada saat sterilisasi media pada suhu 121°C. Menurut Bhattacharjee *et al.* (2009), sterilisasi media pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* juga menyebabkan *browning* karena terjadi reaksi Maillard. Reaksi Maillard atau reaksi *browning* nonenzimatik merupakan reaksi antara asam amino dengan gula pereduksi, seperti yang terjadi karena suhu tinggi atau pH asam (Einarson *et al.* 1983).

Nilai rasio C/N media pertumbuhan bakteri *P. pediococcus* pada penelitian ini berkisar antara 8.3–14.3. Berdasarkan hasil penelitian rasio C/N terbaik masih termasuk ke dalam syarat rasio C/N untuk pertumbuhan biomassa bakteri yaitu 7–10 (Riadi 2007). Rasio C/N tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah sel bakteri, tetapi berpengaruh nyata terhadap produksi total asam. Semakin tinggi rasio C/N, total produksi asam menjadi semakin rendah. Rasio C/N yang tinggi berarti mempunyai kadar nitrogen yang kurang, sehingga produksi enzim yang digunakan untuk mensintesis asam laktat juga berkurang dan produk asam laktatnya sedikit (Yulistawati 2008). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Safitri *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa semakin tinggi rasio C/N pada media pertumbuhan *whhey* tahu maka produksi asam laktat oleh BAL akan menurun.

## DAFTAR PUSTAKA

- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 1990. *SNI 03-1971-1990* Metode pengujian kadar air agregat. Jakarta(ID): BSN.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2004. *SNI 06-6989.11-2004* Cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter. Jakarta(ID): BSN.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2004. *SNI 06-6989.3-2004* Cara uji padatan tersuspensi total (Total Suspended Solid, TSS) secara gravimetri. Jakarta(ID): BSN.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2004. *SNI 2981:2009* Yoghurt. Jakarta(ID): BSN.
- Bhattacharjee MK *et al.* 2009. Microwave sterilization of growth medium alleviates inhibition of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* by Maillard reaction product. *J Microbiol Methods* 78:227-230.
- Bradstreet RB. 1954. Kjeldahl method for organic nitrogen. *Anal Chem* 26:185-187.
- Coelho LF *et al.* 2010. Improvement of L(+)-lactic acid production from cassava wastewater by *Lactobacillus rhamnosus* B 103. *J Sci Food Agric* 90:1944-1950.
- De Man JC *et al.* 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J Appl Bact* 23:130-135.
- Dubois M *et al.* 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. *Anal Chem* 28:350-356.
- Einarson H *et al.* 1983. Inhibition of bacterial growth by maillard reaction product. *J Agric Food Chem* 31:1043-1047.
- Jang S *et al.* 2014. Identification of an anti-listerial domain from *Pediococcus pentosaceus* T1 derived from kimchi, a traditional fermented vegetable. *J Food Control* 43:42-48.
- Leroy F, Vuyst LD. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry [review]. *Trends in Food Sci Technol* 15:67-78.

- Lindgren SE, Dobrogosz WJ. 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol Rev* 87:149-164.
- Liu Y *et al.* 2013. Comparison of three *Pediococcus* strains for lactic acid production from glucose in the presence of inhibitors generated by acid. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 18:1192-1200.
- Nancib N *et al.* 2001. The effect of supplementation by different nitrogen sources on the production of lactic acid from date juice by *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. *Biores Technol* 78:149-153.
- Ochoa FG, Gomez E. 2009. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes : An overview. *J Biotech Adv* 27:153-176.
- Purwoko T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta(ID): Bumi Aksara.
- Rembulan GD *et al.* 2015. Penambahan starter bakteri asam laktat terenkapsulasi untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen pada proses produksi tapioka. *J Teknol dan Industri Pangan* 26:34-43.
- Riadi L. 2007. *Teknologi Fermentasi*. Yogyakarta(ID): Graha Ilmu Pr.
- Rosyidah E *et al.* 2013. The use of lactic acid bacteria and cellulolytic bacteria to improve the chemical properties of corn flour. *Makara J Sci* 17:75-80.
- Safitri N *et al.* 2016. Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey tahu. *J Sumberdaya Hayati* 2:31-38.
- Sharma V, Mishra HN. 2014. Unstructured kinetic modeling of growth and lactic acid production by *Lactobacillus plantarum* NCDC 414 during fermentation of vegetable juices. *Food Sci Tech* 59:1123-1128.
- Walkley A, Black IA. 1933. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci* 37:29-37.
- Widarti BN *et al.* 2015. Pengaruh rasio C/N bahan baku pada pembuatan kompos dari kubis dan kulit pisang. *J Integrasi Proses* 5:75-80.
- Yeni *et al.* 2016. Penggunaan substrat whey tahu untuk produksi biomassa oleh *Pediococcus pentosaceus* E.1222. *JITP* 16:284-293.
- Yuliana N. 2008. Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolat T5 yang berasal dari tempoyak. *J Teknol Ind Hasil Pert* 13:108-116.
- Yulistawati E. 2008. Pengaruh suhu dan C/N rasio terhadap produksi biogas berbahan baku sampah organik sayuran [skripsi]. Bogor(ID) : Institut Pertanian Bogor.