

## PRODUKSI BUBUK INOKULUM *URUTAN* DARI KULTUR MURNI *Pediococcus acidilactici* U318 DENGAN BEBERAPA JENIS BAHAN PENGISI

**Nyoman Semadi Antara**

Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

**I P. G. Urip Sanjaya Trisna**

Alumnus Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

**I Ketut Suter**

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

---

### ABSTRACT

---

Aim of the research was to find out the viability of *Pediococcus acidilactici* U318 in inoculum powder during storage. The filler material used in the production of inoculum powder was three kinds of flour, namely maizena, rice flour and tapioca. The research was done in laboratory scale as experiment research which was designed by randomized block design with factorial experiment. Two factors were experimented, namely the kinds of flour as a filler material as the first factor and the storage period as the second factor.

Result of the research showed that the treatment of flour as a filler material did not influence the viability of *P. acidilactici* U318 in inoculum powder. Any filler material used in production of the powder gave same protective action on its viability. The viability of *P. acidilactici* U318 decreased during storage period. After storage of 4 weeks the average of viable *P. acidilactici* U318 was about  $2,54 \times 10^{10}$  cfu/g which decreased one log cycle from the initial of storage.

*Keywords:* *urutan*, *P. acidilactici* U318, *inoculum*, *filler material*.

---

### PENDAHULUAN

Sosis merupakan salah satu jenis makanan terbuat dari daging yang dicincang, dihaluskan dan diberi bumbu kemudian dimasukkan ke dalam selongsong. Bahan utama pada pembuatan sosis adalah daging, dan daging yang digunakan tergantung dari jenis sosis yang akan dibuat. Misalnya dalam pembuatan sosis babi, daging yang digunakan sebagai bahan dasar adalah daging babi. Selain bahan utama pada pembuat sosis juga ditambahkan bahan pengisi (Hadiwiyoto, 1983). Sejumlah bahan pengisi ditambahkan dalam pembuatan sosis diantaranya bertujuan untuk menambah citarasa dan meningkatkan aroma (Soeparno, 1992).

Beragam makanan tradisional ada di Bali, salah satunya adalah sosis tradisional terfermentasi "*Urutan*". *Urutan* di Bali dibuat dari daging babi yang dipotong kecil-kecil kemudian ditambahkan garam dan campuran bumbu setelah itu dimasukkan ke dalam selongsong usus babi. Selanjutnya daging yang telah dimasukkan ke dalam selongsong itu difermentasi selama 2 – 4 hari dibawah sinar matahari. Suhu yang biasa digunakan

adalah  $50^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pada siang hari dan  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pada malam hari (Antara *et al.*, 2004).

Dewasa ini *urutan* terfermentasi jarang ditemukan, hal ini disebabkan karena kegagalan fermentasi sering terjadi pada saat proses pengolahan. Bau tidak sedap dan rasa yang kurang enak merupakan hal yang terjadi akibat kegagalan fermentasi. Salah satu hal yang dominan menyebabkan kegagalan fermentasi adalah kurang maksimalnya kerja dari bakteri asam laktat hal ini dicirikan dari rasa asam yang berlebihan dan tekstur tidak kompak.

Salah satu bakteri yang dominan dalam *urutan* adalah jenis *Pediococcus acidilactici*. Bakteri ini diisolasi langsung dari *urutan* dan sangat berperan dalam proses fermentasi *urutan*. Salah satu strain *P. acidilactici* yaitu strain U318 merupakan bakteri dominan dalam *urutan* yang menghasilkan bakteriosin. Bakteriosin yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam *urutan* ketika *urutan* itu difermentasi dan disimpan (Antara *et al.*, 2004). Bakteriosin yang dihasilkan juga berfungsi mengontrol pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* sehingga *urutan* yang dihasilkan tidak mempunyai rasa yang terlalu asam. Selain itu *P. acidilactici* U318 dapat menurunkan pH dengan cepat sehingga bakteri yang bukan bakteri asam laktat terlebih yang merugikan dapat dihambat pertumbuhannya.

Melihat keunggulan-keunggulan tersebut serta pentingnya peranan *P. acidilactici* U318 dalam proses fermentasi *urutan*, maka penelitian ini diarahkan pada pembuatan inoculum dengan *P. acidilactici* U318 sebagai kultur starter, dengan beberapa macam perlakuan bahan pengisi dan pelindung serta perlakuan umur simpan. Inoculum (*ragi urutan*) merupakan salah satu pemecahan yang dapat diberikan kepada masyarakat, dalam hal penggunaan kultur starter *P. acidilactici* U318 untuk produksi *urutan*, mengingat peranan mikroba ini dalam proses fermentasi sangat penting. Sehingga pada nantinya *urutan* terfermentasi dapat kembali diproduksi oleh masyarakat dan dengan adanya inoculum ini diharapkan kegagalan pada saat fermentasi bisa dicegah.

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Pebruari sampai Mei 2007, bertempat di UPT Laboratorium

## **Produksi Bubuk Inokulum Urutan Dari Kultur Murni *Pedococcus acidilactici* U318 Dengan Beberapa Jenis Bahan Pengisi**

Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana, Laboratorium Kimia dan Analisis Pangan FTP Universitas Udayana Denpasar dan Laboratorium Bio-industri FTP Universitas Udayana.

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur starter *P. acidilactici* U318 yang didapat dari UCC (Unit Culture Collection) UPT. Lab. Terpadu Biosains dan Bioteknologi, alkohol 70%, aquades, NaCl 0,85%, PCA (Plate Count Agar) merek Pronadisa, BaCl<sub>2</sub>, susu skim, tepung tapioka (Anjing Laut), tepung beras (Rose Brand), tepung maizena (Pazola), daging babi, lemak babi, bumbu, MRS (de Man Rogosa Sharpe) broth dan agar merek Pronadisa.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laminar Flow Cabinet (Merek Esco), Autoclave (Allamerican, 1925X), Pipet Man (Gilson, X0914M), Tip blue and yellow (QSP, 1-200 µl & 1-100 µl), Tabung Reaksi (Merek Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), Pipet Volume (Pyrex), Timbangan Analitik (Mettler Toledo, PG8001), Inkubator (Mettler, BLM 100-800), Gelas Ukur (Bomex), Sterer Bar (Iwaki, BS-38), Magnetic Sterer, sendok gelas bengkok, Aluminium Foil (Klin Pak), Buncen, Vorteks (Thermonics, TM-100 Single Unit), Jarum Ose, Oven Vakum, a<sub>w</sub> meter, Pendingin (Glacio, GR-624/240PD) kertas saring, kapas dan alat lain yang diperlukan dalam penelitian ini.

### **Rancangan Percobaan**

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian percobaan di laboratorium. Percobaan dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan pola percobaan faktorial, dua faktor. Faktor pertama adalah bahan pengisi kultur starter *P. acidilactici* U318, yang terdiri dari 3 level yaitu T1 = Tepung maizena, T2 = Tepung beras, T3 = Tepung tapioka. Masing-masing bahan pengisi di atas akan ditambahkan susu skim sebanyak 10% dari berat bahan yang akan dicampur.

Faktor kedua adalah lama penyimpanan inokulum dalam bahan pengisi yang terdiri dari 5 level yaitu : M0 = 0 Minggu (setelah pengeringan), M1 = 1 Minggu, M2 = 2 Minggu, M3 = 3 Minggu, M4 = 4 Minggu

Dari rancangan percobaan diatas diperoleh 15 kombinasi percobaan dan terdiri dari 2 kelompok, sehingga ada 30 unit percobaan.. Data yang diperoleh kemudian akan dianalisis dengan sidik ragam dan apabila ada pengaruh perlakuan perlakuan akan dilanjutkan dengan uji Duncan.

### **Prosedur Percobaan**

#### **Persiapan kultur**

Persiapan kultur terdiri dari proses pembiakan kultur sebagai berikut: Dibuat media MRS broth (0.13), dicampur dengan aquades sebanyak 5 ml. Setelah homo-

gen media disterilisasi t = 15 menit, T = 121°C dan P = 15 psi. Setelah dingin sebanyak 100 µl bakteri ditanam pada media dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C.

### **Pembuatan inokulum cair**

Proses pembuatan inokulum cair adalah sebagai berikut: ke dalam 5 ml media MRS cair diinokulasi dengan 3 ose *P. acidilactici* U318 dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya 1 ml kultur tersebut diinokulasi kembali ke dalam 5 ml MRS cair (dibuat 3 tabung, masing-masing 5 ml) kemudian diinkubasi selama 24 jam dan suhu 37°C. Kultur yang telah tumbuh selanjutnya ditumbuhkan kembali pada media MRS cair 10 ml, 30 ml dan 300 ml. Untuk tiap pemindahan *P. acidilactici* U318 diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C, sehingga akan didapat inokulum cair 300 ml sebanyak 3 labu erlenmeyer.

### **Persiapan bahan pengisi**

Tepung dan skim disangrai secara terpisah (T = 85° ± 5°C, t = 10 menit), kemudian ditimbang masing masing bahan sesuai perbandingan yaitu untuk tapioka, beras dan maizena masing-masing sebanyak 270 g dan skim masing-masing 30 g, kemudian dimasukkan secara terpisah ke dalam plastik.

### **Proses produksi bubuk inokulum**

Proses produksi bubuk inokulum adalah sebagai berikut: 300 ml inokulum cair dicampur dengan skim sebanyak 30 g diaduk secara aseptis sampai homogen, dilanjutkan pencampuran dengan tepung sebanyak 270 g. Setelah pencampuran kemudian dikeringkan di dalam oven vakum pada suhu 45°C dan waktu 7-8 jam untuk masing-masing perlakuan. Setelah kering produk dihaluskan dijadikan bubuk kemudian dikemas di dalam plastik (polietilen) dan disimpan pada suhu 10°C. Produk yang disimpan akan dianalisis mulai dari minggu ke-0, yaitu setelah pengeringan dan 1, 2, 3, 4 minggu berikutnya.

### **Variabel yang Diamati**

Pengamatan dilakukan terhadap beberapa variabel inokulum yaitu total *P. acidilactici* U318 sebagai total bakteri asam laktat (Fardiaz, 1992), total mikroba (Fardiaz, 1992) dan aktivitas air (Buckle,1982).

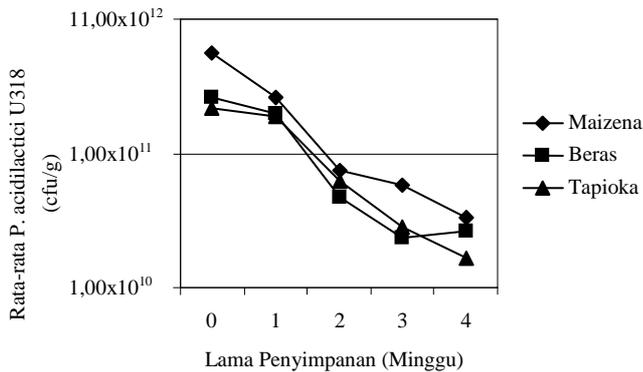
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Total *P. acidilactici* U318 Pada Bubuk Inokulum**

Hasil pengamatan menunjukkan jumlah rata-rata bakteri *P. acidilactici* U318 mulai dari minggu ke-0 sampai minggu ke-4 dapat dilihat dan Gambar 1. Adapun data pengamatan jumlah rata-rata *P. acidilactici* U318 sebelum dikeringkan adalah 1.82 x 10<sup>13</sup>, 6.75 x 10<sup>12</sup>, 1.31 x 10<sup>13</sup> cfu/g berturut-turut untuk tepung maizena, beras dan tapioka.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan umur simpan berpengaruh sangat nyata terhadap viabilitas *P. acidilactici* U318 pada bubuk inokulum ( $P < 0.01$ ), sedangkan perlakuan jenis tepung tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas *P. acidilactici* U318 pada bubuk inokulum. Diperlihatkan pula bahwa perlakuan jenis tepung memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap viabilitas *P. acidilactici* U318 pada bubuk inokulum. Ini membuktikan jenis *P. acidilactici* U318 dapat hidup dalam ketiga bahan pengisi, hal ini disebabkan karena masing-masing bahan pengisi terdiri dari komponen yang hampir sama seperti protein, lemak, karbohidrat, P, Fe, Ca dan air serta ukuran granula pati yang tidak jauh berbeda.

Selama masa simpan jumlah *P. acidilactici* U318 cenderung menurun pada tiap perlakuan tepung, hal ini disebabkan karena kondisi bakteri itu sendiri. Saat disimpan bakteri ini tetap bertahan hidup tetapi tidak beraktivitas atau inaktif (dorman), keadaan ini disebabkan karena rendahnya kadar air, yang dicirikan dengan rendahnya  $a_w$  dan suhu penyimpanan yang rendah ( $10^\circ\text{C}$ ). Suhu rendah dapat menghambat metabolisme bakteri bakteri.

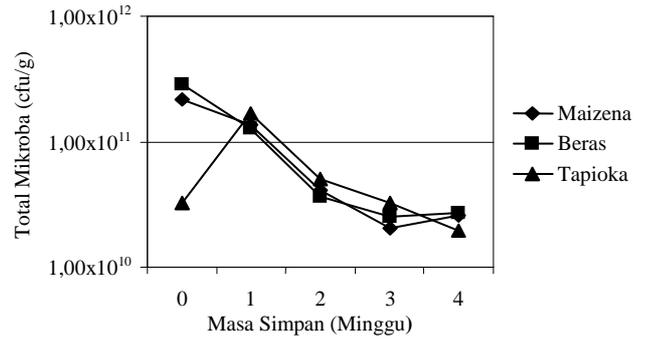


Gambar 1. Grafik viabilitas *P. acidilactici* U318 pada inokulum.

Disamping itu jenis *P. acidilactici* U318 tidak mampu membentuk spora, seperti halnya kapang atau khamir. Spora pada bakteri merupakan suatu bentuk bakteri yang sedang dalam usaha melindungi diri terhadap pengaruh yang kurang menguntungkan dari lingkungan luar (Dwidjosoputro, 1979).

### Total Mikroba Pada Bubuk Inokulum

Dari hasil pengamatan selama penelitian didapatkan jumlah rata-rata dari total mikroba mulai dari minggu ke-0 sampai minggu ke-4 dapat dilihat pada Gambar 2. Adapun data pengamatan jumlah rata-rata total mikroba sebelum dikeringkan adalah  $7.65 \times 10^{12}$ ,  $5.15 \times 10^{12}$ ,  $1.27 \times 10^{13}$  cfu/g berturut-turut untuk tepung maizena, beras dan tapioka.



Gambar 2. Grafik total mikroba pada inokulum.

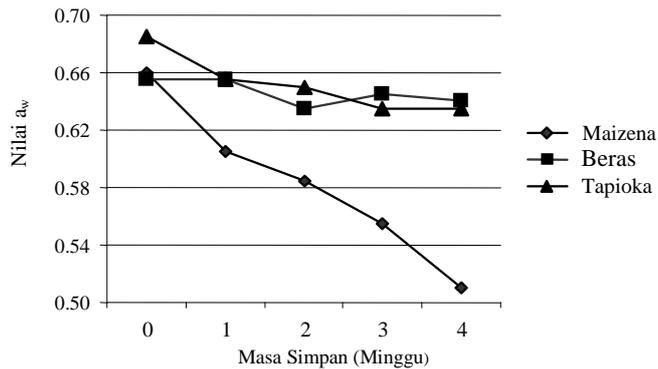
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan umur simpan berpengaruh sangat nyata terhadap total mikroba pada bubuk inokulum ( $P < 0.01$ ), perlakuan jenis tepung tidak berpengaruh nyata terhadap total mikroba pada bubuk inokulum. Diantara kedua perlakuan tidak terjadi interaksi. Demikian juga perlakuan jenis tepung memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap total mikroba pada bubuk inokulum.

Selama masa simpan jumlah mikroba cenderung menurun pada tiap perlakuan tepung (Gambar 2). Rendahnya kadar air yang dicirikan dengan rendahnya  $a_w$  serta suhu penyimpanan yang dingin menyebabkan mikroba sulit berkembang.

Jika total mikroba dibandingkan dengan total *P. acidilactici* U318 pada masing masing perlakuan jenis tepung dan masa simpan, total mikroba lebih rendah dibandingkan dengan total *P. acidilactici* U318. Hal ini menandakan dalam bubuk inokulum tidak ada kontaminasi. Tidak adanya kontaminasi disebabkan karena pada bubuk inokulum bakteri yang ada merupakan kultur murni. Pada saat pengeringan dengan rentang waktu 24 jam mikroba *P. acidilactici* masih bertahan walaupun dalam kondisi vakum, karena *P. acidilactici* U318 bersifat mikroaerofilik (Fardiaz, 1992), yaitu mikroba yang dapat hidup pada konsentrasi  $\text{O}_2$  dan atmosfer yang rendah. Perbedaan jumlah mikroba pada pengamatan total BAL dan total mikroba mungkin juga disebabkan oleh formula MRS dan PCA yang berbeda.

### Aktivitas air ( $a_w$ )

Perlakuan jenis tepung dan umur simpan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap  $a_w$  bubuk inokulum, serta diantara kedua perlakuan terjadi interaksi.  $a_w$  tertinggi pada maizena diperoleh pada minggu ke-0 dan terendah pada minggu ke-4, sedangkan pada beras dan tapioka hasil yang didapat tidak berbeda dengan maizena pada minggu ke-0. Perubahan  $a_w$  pada maizena dari awal sampai akhir masa penyimpanan cenderung mengalami penurunan yang lebih besar dibanding beras dan tapioka (Gambar 3), hal ini mungkin disebabkan karena ukuran partikel maizena lebih kecil dibanding beras dan tapioka.



Gambar 3. Grafik aktivitas air pada bubuk inokulum.

Penurunan  $a_w$  pada bubuk inokulum juga disebabkan karena penguapan air selama penyimpanan. Menurut Fardiaz (1992), jika kelembaban di sekitar bahan pangan lebih rendah daripada  $a_w$ -nya, maka bahan pangan tersebut mengalami penguapan air begitu juga sebaliknya. Penguapan sejumlah air pada bubuk inokulum ditandai dengan terbentuknya uap air yang terlihat menempel pada bahan pengemas.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian produksi inokulum urutan dengan menggunakan *P. acidilactici* U318 sebagai kultur starter dengan beberapa jenis bahan pengisi, maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. *P. acidilactici* U318 dapat bertahan hidup pada ketiga bahan pengisi.
2. Dilihat dari perlakuan masa simpan mulai dari awal penyimpanan sampai akhir masa penyimpanan jumlah rata-rata *P. acidilactici* U318 yang bertahan hidup cenderung menurun, yaitu  $2,54 \times 10^{10}$  cfu/g. Menurun sekitar satu *log cycle* dari jumlah bakteri awal.

### DAFTAR PUSTAKA

- Antara, N.S., I N. Sujaya, A. Yokota, K. Asano, W.R. Aryanta dan F. Tomita. 2002. Identification and succession of lactic acid bacteria during fermentation of *urutan*, a Balinese indigenous fermented sausage. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 18: 255–262.
- Antara, N.S., I N. Sujaya., A. Yokota., K. Asano dan F. Tomita. 2004. Effects of Indigenous Starter Cultures on The Microbial and Physiochemical Characteristics of *Urutan*, a Baliness Fermented Sausage. *J. Biosci. Bioeng.* 98(2): 92–98.
- Astawan, M. dan W. Astawan. 1988. *Teknologi Pengolahan Pangan Hewani Tepat Guna*. CV. Akademika Pressindo, Jakarta.
- Dwidjosoputro, D. 1979. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Hastama, Malang.
- Eckner, K.F. 1992. *Bacteriocins and Food Application*. Dairy Food and Environ. Sanitation.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. PT. Raja Grafindo Persada. Kerjasama dengan PAU antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Hadiwiyoto, S. 1983. *Hasil-Hasil Olahan Susu, Ikan, daging dan Telur*. Liberty, Yogyakarta.
- Soeparno. 1992. *Ilmu dan Teknologi Daging*. Universitas Gajah Mada Press, Jakarta.