

Pengaruh Fermentasi Fungi, Bakteri Asam Laktat dan Khamir terhadap Kualitas Nutrisi Tepung Sorgum

Effect of Lactic Acid Bacteria, Fungi and Yeast Fermentation on Nutritional Quality of Sorghum Flour

Raden Haryo Bimo Setiarto, Nunuk Widhyastuti, Iwan Saskiawan

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia,
 Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Kawasan CSC Cibinong 16911, Indonesia
 Email: haryobimo88@gmail.com

Submisi: 3 November 2015; Penerimaan: 27 Januari 2016

ABSTRAK

Masalah ketahanan pangan di Indonesia saat ini diantaranya adalah pola konsumsi masyarakat sangat tergantung pada beras, terigu, dan belum luasnya pemanfaatan sumber karbohidrat lokal seperti umbi-umbian dan sereal. Sorgum adalah salah satu sereal lokal yang berpotensi dikembangkan menjadi sumber karbohidrat dan protein. Namun, salah satu kendala yang dihadapi dalam pemanfaatan sorgum sebagai bahan pangan adalah rendahnya daya cerna protein sorgum. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh fermentasi *Rhizopus oligosporus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap kualitas nutrisi dan daya cerna protein tepung sorgum. Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu pra-perlakuan biji sorgum, penyiapan inokulum, fermentasi padat, fermentasi cair, fermentasi campuran padat dan cair terhadap biji sorgum, penepungan (pengeringan dan penggilingan), analisis mikrobiologi (total koloni mikroba) dan analisis kimia (kadar proksimat, asam amino, dan daya cerna protein). Pembuatan tepung sorgum dilakukan dengan empat perlakuan secara triplo yaitu kontrol (tanpa fermentasi), fermentasi cair (dengan *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cerevisiae*), fermentasi padat (dengan *Rhizopus oligosporus*), dan fermentasi campuran padat dan cair (dengan *Rhizopus oligosporus*, *Lactobacillus plantarum* dan *Saccharomyces cerevisiae*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah mikroba pada tepung sorgum fermentasi masih dalam batas aman sesuai dengan SNI. Proses fermentasi tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar protein, karbohidrat, dan lemak pada tepung sorgum. Selama fermentasi sorgum, kadar asam amino sistein dan lisin mengalami peningkatan sedangkan beberapa asam amino lainnya menurun. Proses fermentasi berpengaruh signifikan dalam meningkatkan daya cerna protein sorgum sebesar 3,5-5 kali lipat dibandingkan dengan kontrol tanpa fermentasi.

Kata kunci: Fermentasi; fungi; bakteri asam laktat; nutrisi; tepung sorgum; khamir

ABSTRACT

Recently, food security problem in Indonesia is mainly due to the consumption dependence on rice and wheat, while the utilization of local sources of carbohydrates such as tubers and cereals are still limited. Sorghum is one of local cereal that potential to be developed as source of carbohydrates and protein. However, a problem encountered on utilising sorghum as food is the low protein digestibility. The objective of this study was to investigate the effects of fermentation of *Rhizopus oligosporus*, *Lactobacillus plantarum*, and *Saccharomyces cerevisiae* on nutritional quality and digestibility of sorghum flour. The procedure in this research were pre-treatment of sorghum grains, preparations of inoculum, solid state fermentation, liquid state fermentation, mixture solid-liquid fermentation of sorghum grains, flouring (draining and mashing), microbial (total plate count) and chemical analysis (proximate analysis, amino acid analysis, and protein digestibility). Sorghum flour was made with 4 variations of treatments that was performed in triplo, i.e: control (without fermentation), liquid fermentation (with *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*), solid fermentation (with *Rhizopus oligosporus*), solid and liquid fermentation (with addition of *Rhizopus oligosporus*,

Lactobacillus plantarum and *Saccharomyces cerevisiae*). The result showed that the number of microbes in fermented sorghum flour was still within the safety limits in accordance to SNI. The fermentation process did not significantly influence the levels of protein, carbohydrate, and fat of sorghum flour. During the fermentation of sorghum, the levels of the amino acids cysteine and lysine increased while several other amino acids decreased. Fermentation increased significantly the digestibility of sorghum protein up to 3,5-5 fold than control without fermentation.

Keywords: Fermentation; fungi; lactic acid bacteria; nutrition; sorghum flour; yeast

PENDAHULUAN

Permintaan tepung terigu yang cenderung naik sebesar 6 % setiap tahun disebabkan tepung terigu telah menjadi bahan pangan pokok kedua setelah beras. Menurut BPS (2013), impor terigu mencapai 5,7 juta ton dan menyerap devisa negara sebesar US\$ 1,8 juta. Penggunaan tepung terigu sebagai bahan baku dalam pembuatan roti dan biskuit akan menyebabkan ketergantungan terhadap impor tepung terigu dan menurunkan serapan pangan berbasis kearifan lokal. Selain itu, penderita alergi terhadap gluten dapat diatasi dengan pemanfaatan tepung bebas gluten. Anglani (1998) melaporkan bahwa biji sorgum dapat diolah menjadi tepung dan bermanfaat sebagai bahan substitusi tepung terigu. Pengembangan tepung sorgum cukup prospektif dalam upaya penyediaan sumber karbohidrat lokal dan bahan substitusi tepung terigu karena harga sorgum yang relatif murah, umur tanam pendek, daya adaptasi terhadap lahan tinggi, relatif lebih tahan terhadap hama dan penyakit serta biaya produksinya rendah (Suarni, 2009).

Tepung sorgum mengandung 3,65 % lemak, 2,74 % serat kasar, 2,24 % abu, 10,11 % protein, dan 80,42 % karbohidrat (Suarni, 2009). Kadar amilopektin (70-80%) dalam pati sorgum lebih tinggi daripada amilosa (20-30 %) (Suarni dan Patong, 2002). Seperti halnya sereal lain, sorgum merupakan sumber vitamin B (tiamin, riboflavin, vitamin B6, biotin dan niasin) dan mineral (Awadalkareem, 2008). Suarni dan Subagio (2013) melaporkan bahwa tepung sorgum merupakan produk yang dihasilkan dari biji sorgum melalui proses penggilingan industri yang dapat menghilangkan kulit biji dan bagian lembaga (*germ*) dalam jumlah besar sedangkan bagian endosperm dihaluskan sampai pada derajat kehalusan yang sesuai. Pengolahan biji sorgum menjadi produk setengah jadi seperti tepung sorgum sangat dibutuhkan untuk peningkatan daya guna dan umur simpan sorgum yang lebih tahan lama. Dengan demikian, sorgum dapat digunakan sebagai bahan pangan alternatif untuk pengganti tepung terigu. Selain itu sorgum dikenal tidak memiliki gluten sehingga tepung sorgum sesuai dikonsumsi oleh konsumen penderita alergi gluten (penderita *celiac*) (Schober dkk., 2007). Hal ini akan menjadi nilai tambah bagi produk olahan berbasis tepung sorgum.

Pengolahan biji sorgum menjadi tepung sorgum lebih diutamakan jika dibandingkan dengan produk setengah jadi lainnya. Hal ini disebabkan oleh daya simpan tepung sorgum yang lebih lama, mudah dicampur (komposit), dapat diperkaya dengan zat gizi (fortifikasi) dan lebih cepat dimasak sesuai tuntutan kehidupan modern yang serba praktis (Rooney dan Awika, 2005). Tepung sorgum berpotensi untuk digunakan sebagai bahan komposit roti. Tepung komposit merupakan tepung yang dibuat dari dua atau lebih bahan pangan (Suarni, 2009).

Kendala yang dihadapi dalam pemanfaatan sorgum adalah rendahnya daya cerna protein sorgum dan keberadaan senyawa tannin yang mempengaruhi aspek sensorik (bau langu dan rasa sepat) sehingga tidak enak dikonsumsi. Protein sorgum dianggap memiliki kualitas yang rendah karena tidak mengandung asam amino lisin serta sedikit asam amino treonin dan triptofan. Protein sorgum juga sulit dicerna karena protein tersebut tersimpan dalam *protein bodies* yang tetap utuh selama pemasakan (Suarni, 2004). Selain itu, kafirin yang merupakan 70 % dari protein sorgum membentuk ikatan silang satu sama lain melalui ikatan disulfida yang sulit dicerna (Suarni dan Singgih, 2002). Berbagai upaya telah dilakukan untuk meningkatkan daya cerna protein sorgum dan kandungan asam amino esensial, diantaranya dengan cara fermentasi dan fortifikasi (Ibrahim dkk., 2005). Proses fermentasi pada tepung sorgum diharapkan dapat meningkatkan kualitas nutrisi, termasuk meningkatkan daya cerna, aroma dan palabilitasnya, selain berfungsi juga untuk preservasi. Fermentasi juga dilakukan untuk memperbaiki tekstur tepung sorgum seperti mengurangi rasa berpasir, kekeringan dan kekerasan *crumb* ketika diaplikasikan untuk membuat roti (Schober dkk. 2007).

Correia dkk. (2010) melaporkan bahwa fermentasi bakteri asam laktat (BAL) yang dilanjutkan dengan pengeringan pada suhu 60 °C akan menurunkan pH tepung sorgum dan sedikit meningkatkan pati tergelatinisasi serta kekentalannya. Nilai pH rendah dari tepung sorgum fermentasi menyebabkan produk roti lebih bervolume dan memiliki *crumb* lebih lembut. Hal itu dikarenakan adanya penurunan aktivitas *malt amylase* dan peningkatan kapasitas pengikatan air (*water holding capacity*) oleh pati (Elkhalifa dkk., 2005). Fermentasi khamir *Saccharomyces cerevisiae*

dapat meningkatkan daya cerna pati secara *in vitro* dan meningkatkan viskositas adonan serta kapasitas pengikatan gas (Ibrahim dkk., 2005). Sementara itu Wang dkk. (2012) melaporkan bahwa fermentasi dengan fungi *Rhizopus oligosporus* dapat meningkatkan daya cerna protein secara *in vitro* pada sereal kedelai dan gandum. Penelitian ini bertujuan meningkatkan nilai gizi dan daya cerna tepung sorgum melalui proses fermentasi fungi (*Rhizopus oligosporus*), bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*) dan khamir (*Saccharomyces cerevisiae*).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji sorgum putih dari varietas Hegari Genjah yang disediakan oleh PT Silva Tropika Utama. Kultur mikroba yang digunakan adalah fungi (*Rhizopus oligosporus*), bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*) dan khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) koleksi INACC, Pusat Penelitian Biologi LIPI.

Preparasi Inokulum Fungi, BAL dan Khamir

Preparasi inokulum fungi, BAL dan khamir dilakukan dengan cara sebagai berikut: *R. oligosporus* diremajakan pada media PDA agar miring, *L. plantarum* diremajakan pada media MRS agar miring, sedangkan khamir *S. cerevisiae* diremajakan pada media YPD agar miring dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Fungi, BAL, dan khamir dipanen dengan ose maupun jarum tanam, kemudian dibuat suspensi dengan menambahkan sebanyak 10 mL akuades steril dan dikocok sampai homogen. Suspensi tersebut diukur serapan optiknya pada panjang gelombang 600 nm sampai mencapai nilai 1,0. Sebanyak 2-5 % suspensi fungi, BAL dan khamir diinokulasikan pada media cair, diinkubasi pada suhu 37 °C tanpa pengocokan (untuk *R. oligosporus* dan *L. plantarum*) serta dengan pengocokan 120 rpm (untuk *S. cerevisiae*).

Preparasi Biji Sorgum Sebelum Fermentasi Fungi, BAL dan Khamir

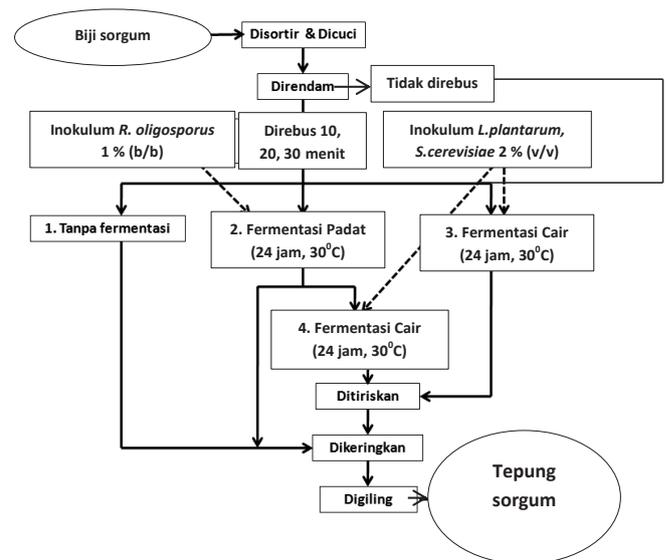
Proses fermentasi biji sorgum dilakukan melalui 2 tahap, yaitu tahap fermentasi padat menggunakan inokulum *R. oligosporus* dan tahap fermentasi cair/terendam menggunakan inokulum *L. plantarum* dan *S. cerevisiae*. Proses fermentasi biji sorgum dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: penimbangan biji sorgum, pencucian, perendaman, pemasakan/perebusan, penirisan, fermentasi padat, fermentasi cair/terendam, penirisan, pengeringan dan penepungan. Biji sorgum dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada biji. Selanjutnya biji sorgum

direndam dengan akuades steril sampai seluruh biji terendam sekitar 5 cm dari batas permukaan air selama 4-6 jam. Biji yang telah ditiriskan kemudian diberi perlakuan yaitu tidak direbus dan direbus (variasi waktu perebusan: 10, 20, dan 30 menit). Selanjutnya biji ditiriskan dan didinginkan sampai mencapai suhu sekitar 40 °C.

Pembuatan Tepung Sorgum Fermentasi

Pembuatan tepung sorgum dilakukan dengan 4 variasi perlakuan secara triplo, yaitu kontrol (tanpa penambahan inokulum mikroba), fermentasi padat (inokulum *R. oligosporus*), fermentasi cair (inokulum *L. plantarum* dan *S. cerevisiae*), kombinasi fermentasi padat dan cair (inokulum *R. oligosporus*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae*) (Suarni dan Patong, 2002).

Proses fermentasi padat dan fermentasi cair (terendam) dilakukan pada suhu ruang (± 30 °C) selama 24 jam. Pada proses fermentasi padat, biji sorgum yang telah dipreparasi sebelumnya diinokulasikan dengan 1 % (b/b) inokulum *R. oligosporus* selama 24 jam pada suhu 30 °C. Sementara itu untuk proses fermentasi cair dilakukan penambahan inokulum *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* masing-masing sebanyak 2 % (v/v) ke dalam akuades steril yang digunakan untuk merendam biji sorgum yang telah dipreparasi. Pada fermentasi cair perendaman dilakukan sampai seluruh biji sorgum terendam sekitar 5 cm dari batas permukaan air, lalu dilakukan inkubasi pada suhu ruang (± 30 °C) selama 24 jam. Setelah proses fermentasi padat dan cair, selanjutnya biji sorgum ditiriskan, dikeringkan dengan oven pada suhu 60 °C selama 16 jam. Setelah itu biji sorgum digiling dengan *pin disk mill* sehingga diperoleh tepung sorgum ukuran 80 mesh. Diagram alir proses pembuatan tepung sorgum secara fermentasi diperlihatkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan tepung sorgum secara fermentasi

Analisis Mikrobiologi dan Kimia

Analisis jumlah total koloni mikrobia (BAL, khamir dan bakteri koliform) (Kim, 2009) dilakukan pada sampel biji sorgum hasil fermentasi yang telah diberikan perlakuan perebusan 10, 20, 30 menit dan tepung sorgum tanpa fermentasi, tepung sorgum hasil fermentasi padat (inokulum *R. oligosporus*), dan tepung sorgum hasil fermentasi campuran padat-cair (inokulum *R. oligosporus*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae*). Sementara itu analisis proksimat (abu, air, lemak, protein, karbohidrat *by difference*) menurut AOAC (2010), analisis serat kasar (AOAC, 2010) dilakukan pada tepung sorgum hasil fermentasi padat dan tepung sorgum hasil fermentasi campuran padat-cair yang diberikan variasi perlakuan perebusan (10, 20, 30 menit) maupun tanpa perebusan. Analisis asam amino dengan teknik HPLC (Sumarno dkk., 2002) dilakukan pada tepung sorgum tanpa fermentasi, tepung sorgum hasil fermentasi padat, dan tepung sorgum hasil fermentasi campuran padat-cair. Analisis daya cerna protein secara *in vitro* (Muhtadi dkk., 1992) dilakukan pada tepung sorgum tanpa fermentasi, tepung sorgum hasil fermentasi padat, tepung sorgum hasil fermentasi cair dan tepung sorgum hasil fermentasi campuran padat dan cair. Analisis kimia dilakukan secara triplo lalu dilakukan analisis data statistik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan software program SPSS 17.0. Untuk mengetahui adanya perbedaan di antara perlakuan maka dilakukan uji lanjut beda nyata terkecil (BNT) pada taraf uji 5 % ($p \leq 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Mikrobiologi Selama Fermentasi Sorgum dengan Fungi, BAL, dan Khamir

Lama waktu perebusan biji sorgum mempengaruhi jumlah bakteri asam laktat, khamir dan bakteri koliform yang tumbuh selama fermentasi biji sorgum. Semakin lama waktu perebusan yang dilakukan (30 menit) berdampak terhadap semakin rendahnya jumlah mikroba (bakteri asam laktat, khamir dan bakteri koliform) yang dapat tumbuh setelah diinkubasi 24 jam (Tabel 1). Duodu dkk. (2003) dan Pranoto

dkk. (2013) melaporkan bahwa struktur pati dan protein biji sorgum yang telah dimasak lebih kompak dan lebih sulit didegradasi oleh enzim amilase dan protease yang dihasilkan mikrobia, sehingga bakteri tidak mendapatkan sumber karbon dan nitrogen yang cukup untuk pertumbuhannya. Semakin lama perebusan yang dilakukan, maka semakin besar jumlah pati sorgum yang tergelatinisasi. Komponen pati yang tergelatinisasi dan mengalami pendinginan akan menghasilkan fenomena retrogradasi (Dicko dkk., 2006). Retrogradasi terjadi akibat terbentuknya kembali ikatan hidrogen antara amilosa dengan amilopektin yang jauh lebih kuat pada pati sorgum tergelatinisasi setelah perlakuan perebusan dan sorgum disimpan pada suhu ruang (Schober dkk., 2007).

Tabel 2. Jumlah total koloni bakteri asam laktat, khamir dan bakteri koliform pada berbagai perlakuan tepung sorgum

Perlakuan	Mikroba	Jumlah total koloni mikroba (CFU/gram)
Tanpa fermentasi	Bakteri asam laktat	1 x 10 ⁴
	Khamir	-
	Bakteri koliform	2 x 10 ⁴
Fermentasi padat	Bakteri asam laktat	1 x 10 ⁵
	Khamir	1,1 x 10 ⁵
	Bakteri koliform	9 x 10 ⁴
Fermentasi padat + cair	Bakteri asam laktat	3 x 10 ⁵
	Khamir	5 x 10 ⁵
	Bakteri koliform	8 x 10 ⁵

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah total koloni mikroba diketahui bahwa keberadaan BAL, khamir maupun bakteri koliform yang terdapat dalam tepung sorgum tanpa fermentasi, tepung sorgum hasil fermentasi padat, dan tepung sorgum hasil fermentasi campuran padat-cair masih dalam batas aman berdasarkan SNI untuk tepung terigu (maksimal 1x10⁶ CFU/gram) (BSN, 2009). Perlakuan perebusan biji sorgum sebelum fermentasi mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Hal ini ditunjukkan dari jumlah total

Tabel 1. Jumlah total koloni bakteri asam laktat, khamir dan bakteri koliform pada cairan fermentasi sorgum jam ke-0 dan jam ke-24

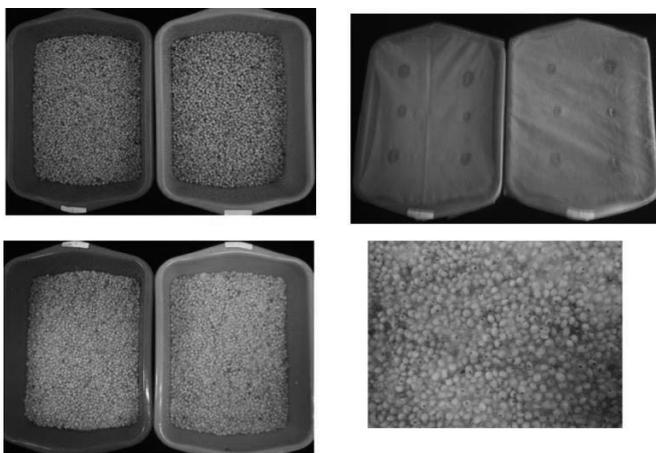
Lama perebusan biji sorgum	Bakteri asam laktat (CFU/mL)		Khamir (CFU/mL)		Bakteri koliform (CFU/mL)	
	Jam ke-0	Jam ke-24	Jam ke-0	Jam ke-24	Jam ke-0	Jam ke-24
10 menit	2,52 x 10 ⁶	2,66 x 10 ⁶	2,43 x 10 ⁶	1,82 x 10 ⁷	7,65 x 10 ⁵	1,81 x 10 ⁷
20 menit	7,23 x 10 ⁶	1,27 x 10 ⁷	2,41 x 10 ⁶	1,92 x 10 ⁷	5,40 x 10 ⁶	1,57 x 10 ⁷
30 menit	2,49 x 10 ⁶	5,71 x 10 ⁶	1,09 x 10 ⁶	2,24 x 10 ⁶	1,13 x 10 ⁶	9,10 x 10 ⁶

koloni mikroba baik BAL, khamir maupun bakteri koliform yang nilainya masih di bawah batas aman yang dipersyaratkan SNI.

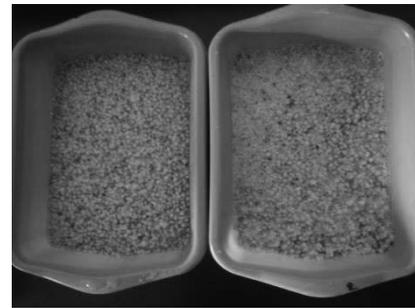
Pada fermentasi padat, terjadi perubahan penampakan fisik biji sorgum setelah 24 jam inkubasi (Gambar 2). Fungi *R. oligosporus* tumbuh dengan baik pada substrat biji sorgum. Hal ini ditunjukkan dengan tumbuhnya miselia fungi yang berwarna putih secara merata di seluruh permukaan biji sorgum sehingga struktur biji sorgum menjadi kompak. Selama proses fermentasi, *R. oligosporus* menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler seperti amilase dan protease yang mendegradasi pati dan protein yang terdapat pada biji sorgum menjadi gula sederhana dan asam amino.

Wang dkk. (2012) melaporkan bahwa fermentasi selama 48 jam dengan *R. oligosporus* mengakibatkan biji gandum dan kedelai lebih kompak seperti tempe namun fungi sudah bersporulasi. Spora fungi akan mengakibatkan cairan fermentasi berwarna agak kehitaman dan spora tersebut akan ikut terbawa saat pemanenan pada akhir fermentasi cair. Akibatnya tepung akan berwarna lebih gelap dan spora tersebut akan mempengaruhi ketahanan tepung selama penyimpanan. Dengan pertimbangan literatur tersebut, maka fermentasi padat pada biji sorgum dilakukan selama 24 jam.

Pengamatan secara visual pada bak fermentasi cair menunjukkan adanya perubahan pada warna, bau, dan keasaman cairan. Inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang mengakibatkan cairan berubah menjadi lebih keruh, berbau asam dan alkohol serta terbentuk gelembung-gelembung gas pada permukaan cairan hasil fermentasi (Gambar 3). Perubahan tersebut menunjukkan terjadinya proses fermentasi biji sorgum oleh BAL dan khamir. BAL memanfaatkan hasil degradasi pati sorgum oleh fungi berupa gula sederhana seperti glukosa, maltosa dan dekstrin untuk pertumbuhannya sehingga menghasilkan asam-asam organik (terutama asam laktat) (Correia dkk., 2010). Sementara itu



Gambar 2. Fermentasi padat biji sorgum menggunakan inokulum fungi *R. oligosporus* (inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam)



Gambar 3. Fermentasi cair menggunakan inokulum BAL dan khamir (inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam)

khamir menggunakan gula tersebut untuk pertumbuhannya dan menghasilkan etanol (Herlinda, 2011).

Kadar Proksimat Tepung Sorgum Fermentasi

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa perlakuan fermentasi padat, fermentasi cair maupun kombinasi fermentasi padat dan cair tidak berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar proksimat dari tepung sorgum fermentasi. Penurunan kadar protein, lemak dan karbohidrat dalam jumlah kecil setelah fermentasi sorgum menunjukkan bahwa senyawa tersebut digunakan oleh mikroba (*R. oligosporus*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae*) sebagai sumber karbon dan sumber nitrogen utama untuk pertumbuhannya. Wang dkk. (2012) melaporkan bahwa penurunan kadar karbohidrat terjadi dalam jumlah kecil pada pembuatan tempe dari campuran kedelai dan gandum dengan inokulum *R. oligosporus*. Penurunan tersebut dikarenakan fungi *R. oligosporus* menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Proses fermentasi tersebut juga tidak berpengaruh signifikan terhadap kadar proksimat tempe dari campuran kedelai dan gandum (Wang dkk., 2012).

Perlakuan perebusan (Tabel 3) dan lama waktu perebusan (Tabel 4) biji sorgum sebelum fermentasi juga tidak berpengaruh signifikan ($p < 0,05$) terhadap perubahan kadar proksimat tepung sorgum. Perebusan biji sorgum pada suhu tinggi (100 °C) berdampak pada putusannya ikatan hidrogen yang bersifat non kovalen pada struktur amilosa dan amilopektin pada pati sorgum yang menyebabkan pati sorgum tergelatinisasi (Schober dkk., 2007). Di samping itu protein pada biji sorgum juga mengalami denaturasi akibat pemanasan (Duodu dkk., 2003; Elkhalfa dkk., 2005; De Mesa Stonestreet dkk., 2010). Duodu dkk. (2003) melaporkan bahwa daya cerna protein dan pati sorgum mengalami penurunan setelah perebusan. Penurunan daya cerna sorgum disebabkan karena fenomena retrogradasi pada pati sorgum dan semakin kuatnya struktur ikatan peptida pada protein sorgum sehingga sulit dihidrolisis oleh enzim pencernaan seperti amilase dan pepsin (Schober dkk., 2007).

Tabel 3. Hasil analisis proksimat dan serat kasar tepung sorgum hasil fermentasi padat dan cair yang dibuat dengan perlakuan biji sorgum tidak direbus dan direbus.

Perlakuan	Protein (%)	Karbohidrat by different (%)	Lemak (%)	Serat kasar (%)	Kadar air (%)	Abu (%)
Tidak direbus, fermentasi padat	11,49 ^a	76,76 ^a	3,25 ^a	2,24 ^a	5,15 ^a	3,34 ^a
Tidak direbus, fermentasi padat + cair	11,38 ^a	73,56 ^b	4,60 ^b	2,48 ^a	7,50 ^b	2,95 ^a
Direbus, fermentasi padat	11,82 ^a	75,72 ^a	2,43 ^c	2,15 ^a	7,39 ^b	2,65 ^a
Direbus, fermentasi padat + cair	11,60 ^a	76,54 ^a	2,03 ^c	2,18 ^a	6,49 ^c	3,35 ^a

Keterangan: Huruf yang sama pada kolom menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5\%$), setelah dilakukan uji statistik dengan uji BNT pada SPSS 17.0

Kisaran kadar lemak pada tepung sorgum hasil fermentasi berkisar antara 2,03-4,69 %. Rendahnya kadar lemak pada tepung sorgum tersebut akan sangat menguntungkan dalam hal penyimpanan dan sifat sensorik. Hal ini disebabkan senyawa lemak dalam jumlah besar pada bahan pangan dapat mempercepat munculnya rasa tengik akibat oksidasi lemak dan kadar air meningkat, sehingga kondisi bahan menjadi rusak, baik fisik maupun kadar nutrisinya (Awika dan Rooney, 2004).

Biji sorgum yang digunakan dalam pembuatan tepung sorgum fermentasi pada penelitian ini tidak disosoh. Hal ini disebabkan proses penyosohan menurunkan nilai gizi biji sorgum karena mengikis lapisan kulit ari yang mengandung komponen gizi, termasuk protein, serat kasar dan lemak. Kadar serat kasar dan β -glukan pada biji sorgum yang tidak disosoh cukup tinggi sehingga memungkinkan sorgum digunakan sebagai sumber serat (Anglani, 1998). Hasil

analisis proksimat menunjukkan bahwa kadar serat kasar tepung sorgum hasil fermentasi berkisar antara 2,15-2,48 % (Tabel 3). Hal tersebut sesuai dengan Dicko dkk. (2006) yang melaporkan bahwa kadar serat kasar sorgum cukup bervariasi berkisar antara 2-9 %. Hubungan serat dengan pencegahan penyakit degeneratif telah banyak dilaporkan. Serat dapat mencegah kanker usus besar (*colon cancer*) dan polip dalam usus besar (*diverticulitis*), juga menurunkan kadar kolesterol dalam darah (*hipercholesterolemia*) (Suarni dan Subagio, 2013). Menurut Rooney dan Awika (2005), sorgum mengandung serat tidak larut (*insoluble dietary fibre*) dalam jumlah tinggi sedangkan kandungan serat larut (*soluble dietary fibre*) dan β -glukan cukup rendah. Sorgum merupakan sumber serat yang baik, terutama serat kasar (*insoluble dietary fibre*) yang dapat menurunkan waktu transit dan mencegah gangguan gastrointestinal (Awika dan Rooney, 2004).

Tabel 4. Hasil analisis proksimat dan serat kasar tepung sorgum dengan perlakuan lama perebusan biji sorgum

Parameter proksimat	Lama perebusan biji sorgum	Kontrol (tanpa fermentasi)	Fermentasi padat	Fermentasi padat dan cair
Protein	10 menit	10,99 ^a	12,73 ^b	12,41 ^b
	20 menit	11,13 ^a	12,85 ^b	12,26 ^b
	30 menit	11,19 ^a	11,78 ^b	13,87 ^c
Karbohidrat by different	10 menit	79,99 ^a	74,88 ^a	76,57 ^a
	20 menit	75,73 ^b	75,34 ^a	79,52 ^b
	30 menit	74,95 ^b	77,09 ^b	72,76 ^c
Lemak	10 menit	2,36 ^a	3,86 ^a	2,66 ^a
	20 menit	4,41 ^b	5,39 ^b	3,40 ^b
	30 menit	3,82 ^b	4,40 ^a	3,70 ^b
Serat kasar	10 menit	2,25 ^a	1,96 ^a	2,53 ^a
	20 menit	1,86 ^a	2,40 ^a	1,97 ^a
	30 menit	1,97 ^a	1,95 ^a	2,70 ^a
Kadar Air	10 menit	5,32 ^a	7,05 ^a	6,84 ^a
	20 menit	7,02 ^b	4,84 ^b	2,82 ^b
	30 menit	7,59 ^b	4,91 ^b	7,13 ^a

Tabel 5. Persyaratan mutu tepung sorgum menurut Codex Standard 173-1989

Paramater	Batas (% basis kering)
Kadar air	Maksimal 15 %
Kadar tanin	Maksimal 0,3 %
Kadar abu	Minimal 0,9 % dan Maksimal 3,5%
Kadar protein (N=6.25)	Minimal 8,5%
Kadar lemak	Minimal 2,2% dan Maksimal 4,7 %
Kadar serat kasar	Minimal 1,8 %
Ukuran partikel	Min 100% tepung melewati ayakan dengan dimensi mesh berdiameter 0,5 mm untuk tepung kualitas baik (<i>fine</i>) dan berdiameter 1 mm untuk tepung kualitas sedang (<i>medium</i>)

Menurut Codex Standard 173-1989, terdapat parameter mutu dari tepung sorgum secara umum dan spesifik. Parameter mutu umum tepung sorgum yaitu aman dan sesuai dengan konsumsi manusia, bebas dari flavor dan aroma menyimpang, bebas dari serangga hidup dan bebas dari kotoran (termasuk serangga mati).

Tepung sorgum harus bebas dari logam berat dan jumlah residu pestisidanya di bawah batas maksimum cemaran logam berat serta mempunyai jumlah mikotoksin di bawah batas maksimum mikotoksin yang diterbitkan oleh *Codex Alimentarius Commission* (CAC). Berdasarkan hasil analisis proksimat yang dilakukan maka perlakuan tepung sorgum hasil fermentasi telah memenuhi standar parameter mutu yang ditentukan oleh Codex Standard 173-1989 (CAC, 1995).

Kadar air tepung sorgum hasil fermentasi berkisar 5,15-7,50 % (lebih rendah dari 15 %) yang merupakan nilai maksimum yang dipersyaratkan CAC. Hal ini membuat umur simpan tepung sorgum fermentasi lebih lama dan aman dari kontaminasi fungi, khamir maupun bakteri. Kadar abu tepung sorgum fermentasi berkisar 2,65-3,35 % (berada di bawah standar maksimal CAC yaitu 3,5 %). Kadar protein tepung sorgum fermentasi berkisar 10,99-13,87 %, lebih tinggi dari standar minimal CAC yaitu 8,5% sehingga produk ini dapat dijadikan sebagai sumber protein fungsional. Sementara itu, kadar lemak pada tepung sorgum fermentasi berkisar 2,03-4,06 % (masih berada di bawah kadar maksimal yang diijinkan oleh CAC yaitu 4,7 %). Rendahnya kadar lemak dapat mencegah ketengikan (*off flavor*) pada tepung sorgum akibat reaksi oksidasi lemak.

Kadar Asam Amino Tepung Sorgum Fermentasi

Analisis kandungan asam amino dilakukan terhadap tepung sorgum kontrol (tanpa fermentasi), tepung sorgum yang diberi perlakuan fermentasi padat dengan *R. oligosporus*,

dan tepung sorgum yang diberi perlakuan fermentasi campuran padat dan cair (*R. oligosporus*, *L. plantarum* dan *S. cereviceae*). Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa asam amino yang paling banyak terkandung dalam tepung sorgum kontrol adalah L-prolin sebesar 1,064 % (b/b) (Tabel 6).

Selama perlakuan fermentasi padat oleh fungi *R. oligosporus* terjadi penurunan sebagian besar kandungan asam amino pada tepung sorgum jika dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan fermentasi). Penurunan kandungan asam amino L-serin, L-asam aspartat, L-asam glutamat, L-histidin, L-glisin, L-arginin, L-treonin, L-alanin, L-prolin, L-tirosin, L-valin, L-metionin, L-leusin, L-isoleusin, dan L-fenilalanin terjadi karena asam amino tersebut bersifat esensial dan sangat dibutuhkan oleh *R. oligosporus* sebagai sumber N dalam menunjang pertumbuhannya (Tabel 6). Hal tersebut menyebabkan sebagian besar kandungan asam amino pada sorgum diabsorpsi oleh fungi tersebut. Di samping memerlukan asupan asam amino esensial untuk pertumbuhannya, *R. oligosporus* juga mensintesis beberapa asam amino selama fermentasi padat sorgum yaitu asam amino L-sistein dan L-lisin HCl (Suarni, 2004). Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan kadar kedua asam amino tersebut pada perlakuan fermentasi padat berdasarkan hasil analisis HPLC (Tabel 6).

Sementara itu kombinasi perlakuan fermentasi padat oleh *R. oligosporus* dan fermentasi cair oleh *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* terhadap biji sorgum dapat meningkatkan kandungan asam amino L-asam glutamat, L-histidin, L-arginin, L-lisin HCl apabila dibandingkan dengan perlakuan kontrol tanpa fermentasi. Hal ini disebabkan beberapa asam amino tersebut merupakan hasil metabolit primer maupun sekunder yang diekskresikan oleh *L. plantarum* dan *S. cereviceae* pada substrat biji sorgum selama berlangsungnya fermentasi cair. Fenomena lain ditunjukkan dengan peningkatan kandungan asam amino L-leusin, L-alanin, L-fenilalanin dalam jumlah yang sangat kecil, bahkan kandungan asam amino L-tirosin relatif stabil (tetap) jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol (tanpa fermentasi) (Suarni, 2004). Untuk mengkaji hal tersebut maka kita perlu membandingkannya dengan hasil analisis asam amino tepung sorgum pada perlakuan fermentasi padat.

Berdasarkan studi komparatif tersebut diketahui bahwa sebagian besar asam amino yang hilang dan diabsorpsi oleh *R. oligosporus* sebagai sumber N selama masa pertumbuhannya akan dikembalikan lagi selama proses fermentasi cair oleh metabolisme bakteri *L. plantarum* dan *S. cerevisiae*. Sebagaimana yang diketahui bahwa selama proses fermentasi baik bakteri *L. plantarum* maupun *S. cerevisiae* selain menghasilkan asam-asam karboksilat organik sebagai produk utama juga menghasilkan senyawa asam amino

Tabel 6. Hasil pengujian kandungan asam amino pada sampel tepung sorgum dengan berbagai variasi perlakuan melalui metode HPLC

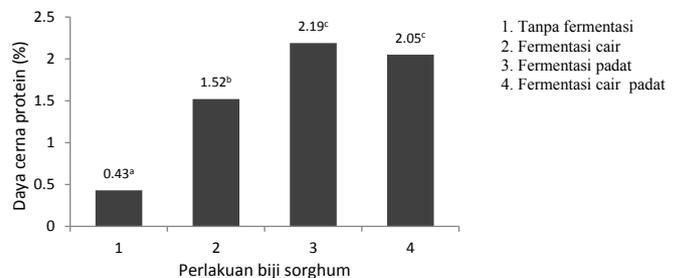
Asam amino	Kandungan asam amino tepung sorgum % (b/b)		
	Kontrol (tanpa fermentasi)	Fermentasi padat	Fermentasi padat + fermentasi cair
L-asam aspartat	0,228 ^a	0,016 ^b	0,105 ^c
L-serin	0,483 ^a	0,032 ^b	0,162 ^c
L-asam glutamat	0,052 ^a	0,016 ^a	0,130 ^b
L-Glisin	0,257 ^a	0,016 ^b	0,083 ^b
L-histidin	0,028 ^a	0,003 ^a	0,099 ^b
L-arginin	0,006 ^a	0,004 ^a	0,063 ^b
L-treonin	0,086 ^a	0,055 ^a	0,055 ^a
L-alanin	0,174 ^a	0,123 ^a	0,181 ^a
L-prolin	1,064 ^a	0,151 ^b	0,406 ^c
L-sistein	0,623 ^a	1,392 ^b	0,463 ^c
L-tirosin	0,034 ^a	0,000 ^b	0,034 ^a
L-valin	0,146 ^a	0,018 ^b	0,044 ^b
L-metionin	0,000 ^a	0,000 ^a	0,000 ^a
L-lisin HCl	0,210 ^a	0,457 ^b	0,311 ^c
L-isoleusin	0,050 ^a	0,009 ^b	0,025 ^c
L-leusin	0,053 ^a	0,009 ^b	0,054 ^a
L-fenilalanin	0,041 ^a	0,004 ^b	0,044 ^a

Keterangan: Huruf yang sama pada tiap baris asam amino menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5\%$), setelah dilakukan uji statistik dengan uji BNT pada SPSS 17.0

yang akan diekspresikan dalam media pertumbuhannya. Akan tetapi selama proses fermentasi cair pada biji sorgum, bakteri *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* juga memerlukan beberapa asam amino esensial sebagai sumber N untuk menunjang pertumbuhannya. Beberapa asam amino seperti L-asam aspartat, L-serine, L-glisin, L-treonin, L-prolin, L-sistein, L-valin, L-metionin, L-isoleusin diabsorpsi oleh mikroba tersebut dari biji sorgum (Awadalkareem, 2008). Hal ini dibuktikan berdasarkan hasil analisis HPLC terhadap kandungan asam amino tersebut yang menunjukkan terjadinya penurunan kadar asam amino apabila dibandingkan dengan kandungan asam amino pada tepung sorgum kontrol.

Dari hasil analisis HPLC juga diketahui bahwa L-metionin tidak terdapat pada tepung sorgum kontrol dan tepung sorgum hasil fermentasi. Terbukti bahwa perlakuan fermentasi padat maupun fermentasi campuran padat-cair pada biji sorgum ternyata tidak mampu menghasilkan kandungan asam amino L-metionin (Ibrahim dkk., 2005). Hal ini disebabkan di dalam biji sorgum tidak terdapat prekursor yang dapat dimanfaatkan baik oleh *R. oligosporus* selama fermentasi padat maupun oleh *L. plantarum* dan *S. cerevisiae* selama fermentasi cair untuk mensintesis asam amino L-metionin (Suarni, 2004).

Daya Cerna Protein Tepung Sorgum Fermentasi



Gambar 4. Daya cerna protein tepung sorgum fermentasi

Keterangan: Huruf yang sama pada diagram batang menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5\%$), setelah dilakukan uji statistik dengan uji BNT pada SPSS 17.0

Elkhalifa dkk. (1999) melaporkan bahwa daya cerna protein sorgum sangat rendah dibandingkan dengan protein dari tanaman yang lain. Hal ini dikarenakan adanya ikatan silang disulfide antar kafirin, interaksi antara kafirin dengan komponen selain protein (polifenol, fitat, lemak, pati dan komponen dinding sel (Elkhalifa dkk., 2005). Interaksi antara kafirin dan polifenol, lemak, dan komponen dinding sel

membentuk ikatan yang resisten terhadap pencernaan (Duodu dkk., 2003).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses fermentasi dapat meningkatkan daya cerna protein sorgum oleh pepsin sekitar 3,5-5 kali lipat, yaitu dari 0,43 % menjadi 1,52 % (untuk perlakuan fermentasi cair), 2,19 % (untuk fermentasi padat) dan 2,05 % (untuk fermentasi campuran padat+cair) (Gambar 4). Sementara itu Pranoto dkk. (2013) melaporkan bahwa tepung sorgum (tanpa pemasakan) hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum* memiliki daya cerna protein yang sangat tinggi hingga mencapai 80-90 %. Perlakuan tanpa pemasakan pada biji sorgum akan lebih memudahkan *Lactobacillus plantarum* dalam mendegradasi protein sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya.

Meningkatnya daya cerna protein sorgum dikarenakan selama proses fermentasi, *Lactobacillus plantarum* menghasilkan enzim protease yang dapat mencerna protein sorgum menjadi menjadi polipeptida sederhana dan asam-asam amino (Pranoto dkk., 2013). Tepung sorgum dengan perlakuan fermentasi padat menggunakan inokulum fungi *R. oligosporus* menghasilkan daya cerna tepung sorgum yang paling tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Wang dkk. (2012) yang melaporkan bahwa selama fermentasi substrat padat, *R. oligosporus* menghasilkan enzim protease dengan aktivitas yang lebih tinggi dalam mendegradasi protein jika dibandingkan dengan isolat BAL maupun khamir.

KESIMPULAN

Pembuatan tepung sorgum dapat dilakukan secara fermentasi menggunakan inokulum *R. oligosporus*, *L. plantarum* dan *S. cerevisiae*. Perlakuan fermentasi tidak berpengaruh nyata terhadap nilai kadar proksimat tepung sorgum. Perlakuan fermentasi dapat meningkatkan daya cerna protein sorgum oleh pepsin sekitar 3,5-5 kali lipat. Selama fermentasi sorgum, kadar asam amino sistein dan lisin mengalami peningkatan sedangkan beberapa asam amino lainnya menurun. Kadar proksimat tepung sorgum hasil fermentasi telah sesuai dengan standar mutu tepung sorgum yang ditentukan oleh Codex Standard 173-1989, sehingga layak dikonsumsi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh kegiatan KKP3N (Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional) Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada ibu Kasirah yang telah membantu baik secara teknis maupun non teknis sehingga penelitian ini berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anglani, C. (1998). Sorghum for human food – a review. *Plant Foods for Human Nutrition*. **52**: 85-95.
- AOAC (2010). *Official Methods of Analysis of The Association of The Analytical Chemists*. USA, Maryland.
- Awadalkareem, W.A. (2008). Protein, mineral content and amino acid profile of sorghum flour as influenced by soybean protein concentrate supplementation. *Pakistan Journal of Nutrition* **7**(3): 475-479.
- Awika, J.M. dan Rooney, L.W. (2004). Review: sorghum phytochemical and their potential impact on human health. *Journal Phytochemistry* **65**: 1199-1221.
- BPS (Badan Pusat Statistika) (2013). *Data Impor Tepung Terigu*. BPS, Jakarta.
- BSN (Badan Standarisasi Nasional) (2009). *Tepung Terigu sebagai Bahan Makanan SNI 3751-2009*. BSN, Jakarta.
- CAC (Codex Alimentarius Commission) (1995). *Codex Standard for Sorghum Flour 173-1989*. http://codex_stan_173-1989.cac.co.us.
- Correia, I., Nunes, A., Guedes, S., Baros, A.S. dan Delgadillo, I. (2010). Screening of lactic acid bacteria potentially useful for sorghum fermentation. *Journal of Cereal Science*. **52**: 9-15.
- De Mesa-Stonestreet, N.J., Alavi, S. dan Bean, S.R. (2010). Sorghum proteins: the concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. *Journal of Food Science* **75**(5): 90-104.
- Dicko, M.H., Gruppen, H., Traore, A.S., Voragen, A.G.J. dan Van Berkel, W.J.H. (2006). Sorghum grain as human food in Africa, relevance of content of starch and amylase activities. *African Journal of Biotechnology* **5**(5): 384-395.
- Duodu, K.G., Taylor, J.R.N., Belton P.S. dan Hamaker, B.R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science* **38**: 117-131.
- Elkhalifa, A.E.O., Chandhrashekar, A. dan El Tinay, A.H. (1999). Effect of preincubation of sorghum flour with enzymes on the digestibility of sorghum gruel. *Food Chemistry* **66**: 339-343.
- Elkhalifa, A.E.O., Schiffler, B. dan Bernhardt, R. (2005). Effect of fermentation on the functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry* **92**: 1-5.
- Herlinda, Y. (2011). *Pembuatan Bioetanol dari Nira Sorgum dengan Proses Fermentasi Menggunakan Yeast Pichia stipitis*. Skripsi. Universitas Riau, Riau.

- Ibrahim, F.S., Babiker, E.E., Yousif, N.E. dan el Tiney, A.H. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristic of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chemistry* **92**: 285-292.
- Kim, J.H. (2009). Characterization of the C-terminal truncated form of amylopullulanase from *Lactobacillus plantarum* L137. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **107**: 124-129.
- Muhtadi, D., Palupi, N.S. dan Astawan, M. (1992). *Metoda Kimia Biokimia dan Biologi dalam Evaluasi Nilai Gizi Pangan Olahan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Pranoto, Y., Anggrahini, S. dan Efendi, Z. (2013). Effect of natural and *Lactobacillus plantarum* fermentation on in-vitro protein and starch digestibilities of sorghum flour. *Food Bioscience* **2**: 46-52.
- Rooney, L.W. dan Awika. J.M. (2005). Overview of products and health benefits of specialty sorgums. *Cereal Foods World* **50**: 109-115.
- Schober, T.J., Bean, S.R. dan Boyle, D.L. (2007). Gluten-free sorghum bread improved by sourdough fermentation: biochemical, rheological, and microstructural background. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 5137-5146.
- Suarni dan Patong, R. (2002). Tepung sorgum sebagai bahan substitusi terigu. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* **21**(1): 43-47.
- Suarni dan Singgih, S. (2002). Karakteristik sifat fisik dan komposisi kimia beberapa varietas/galur biji sorgum. *Stigma* **10**(2): 127-130.
- Suarni (2004). Komposisi asam amino penyusun protein beberapa serealia. *Stigma* **12**(3): 352-355.
- Suarni (2009). Potensi tepung jagung dan sorgum sebagai substitusi terigu dalam produk olahan. *Iptek Tanaman Pangan* **4**(2): 181-193.
- Suarni dan Subagio, H. (2013). Prospek pengembangan jagung dan sorgum sebagai sumber pangan fungsional. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* **32**(3): 47-55.
- Sumarno, Noegrohati, S., Narsito dan Falah, I.I. (2002). Estimasi kadar protein dalam bahan pangan melalui analisis nitrogen total dan analisis asam amino. *Majalah Farmasi Indonesia* **13**(1): 34-43.
- Wang, H.L., Ruttle, D.I. dan Hesseltine, W. (2012). Protein quality of wheat and soybeans after *Rhizopus oligosporus* fermentation. *The Journal of Nutrition* **20**(1): 109-114.