

PEMANFAATAN KULTUR *Pediococcus acidilactici* F-11 PENGHASIL BAKTERIOSIN SEBAGAI PENGGUMPAL PADA PEMBUATAN TAHU

Eni Harmayani¹, Endang S. Rahayu¹, Titiek F. Djaafar², Citra Argaka Sari¹
dan Tri Marwati³

¹ Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
E-mail: fata@ugm.ac.id

² Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta
Email: jafet@ugm.ac.id

³ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor Jl. Tentara Pelajar No. 12 A. Email: bb_pascapanen@litbang.deptan.go.id

Kata kunci : whey tahu, *P. acidilactici* F-11, bakteriosin, penggumpal, tahu

ABSTRACT. E. Harmayani, E.S. Rahayu, T.F. Djaafar, C.A. Sari and T. Marwati. Utilization of bacteriocin producer culture *Pediococcus acidilactici* F11 as coagulant in tofu processing. Tofu is a food product made from soy protein coagulated with spontaneously fermented whey. One of problem in tofu processing is the presence of acid flavour of tofu due to the use of acid coagulant type the coagulant alternative become urgently required. The purposes of this research were (i) to study the growth and bacteriocin production of *P. acidilactici* F-11 in tofu whey, (ii) to study the utilization of *P. acidilactici* F-11 culture as coagulant in tofu production, and (iii) to investigate microbiological and sensory quality of tofu coagulated with the culture during storage at 4°C. The research was conducted in three steps including: production of bacteriocin from *P. acidilactici* F-1, utilization of *P. acidilactici* F-11 culture as coagulant on tofu production, and total bacteria and sensory analysis of tofu during storage. The result showed that the growth of *P. acidilactici* F-11 in whey with addition 1 % sucrose at 37 °C was better than that without sucrose but not as good as the growth in TGE broth. Bacteriocin activity was detected by appearance of clear zone on TGE agar and prolonged lag phase of indicator bacteria, *P. acidilactici* LB-42. The initial bacterial count on tofu was $3.9 \times 10^5 - 9.1 \times 10^5$ CFU/g. During storage, bacterial count of control increased by 2 log cycle, whereas tofu coagulated with *P. acidilactici* F-11 culture at 37°C and room temperature increased by 1.5 and 1 log cycle, respectively. Tofu coagulated with *P. acidilactici* F-11 culture had smoother and more compact texture and less sour than control. The sensory quality of tofu coagulated with *P. acidilactici* F-11 culture at room temperature was similar to tofu coagulated with *P. acidilactici* F-11 culture at 37°C.

Keywords : tofu whey, *P. acidilactici* F-11, bacteriocin, coagulant, tofu

PENDAHULUAN

Tahu merupakan makanan tradisional bagi masyarakat Indonesia sebagai makanan sumber protein yang bermutu tinggi karena banyak terdapat asam amino esensial. Dengan kadar protein yang tinggi dan kadar air 70-85%

serta a_w 0,98-0,99 maka tahu mudah mengalami pembusukan oleh bakteri pembusuk. Bakteri yang sering mengkontaminasi tahu adalah genera *Bacillus*, bakteri asam laktat seperti *Streptococcus* dan *Leuconostoc* serta *coliform* yang tahan terhadap suhu refrigerasi (Sardjono dan Kasmidjo, 1992; Rahayu, 1992).

Penggumpalan merupakan tahapan proses yang paling penting karena adanya korelasi yang kompleks pada variabel sifat kimia (total padatan, pH, volume) kedelai, tipe, jumlah dan konsentrasi penggumpal, metode penambahan dan pencampuran serta suhu dan waktu penggumpalan. Bahan penggumpal merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap rendemen dan kualitas tahu. Bahan penggumpal sari kedelai pada pembuatan tahu terdapat beberapa tipe. Di Indonesia, tipe penggumpal asam banyak digunakan oleh sentra industri tahu. Penggumpalan susu kedelai dalam pembuatan tahu menggunakan cara fermentasi merupakan salah satu cara yang banyak dilakukan oleh produsen tahu lokal. Cara ini menggunakan *whey* yang dibiarkan selama satu hari sehingga bakteri asam laktat dapat tumbuh dan memproduksi asam laktat. Kemudian dicampur dengan susu kedelai untuk digumpalkan (Susanti, 1999). Nilai pH *whey* yang semula mendekati netral menjadi turun karena produksi asam selama fermentasi. Penggunaan asam akan menurunkan pH sari kedelai yang menyebabkan protein kedelai (globulin) mencapai titik isoelektrik sehingga mengalami presipitasi.

Permasalahan yang dihadapi pengrajin tahu yaitu bahwa pada tahu yang dihasilkan dari penggumpal tipe asam berupa kecutan seringkali muncul *flavor* asam yang menurunkan penerimaan tahu secara organoleptik. Dengan demikian perlu alternatif bahan penggumpal asam yang lain. Alternatif bahan penggumpal tipe asam yang dapat digunakan yaitu asam laktat sebagai hasil fermentasi bakteri asam laktat, vinegar, asam fosfat, asam sitrat, asam malat, asam tartrat, ataupun sari lemon. Penggunaan asam laktat dapat menggumpalkan 55% protein kedelai sedangkan asam asetat dapat menggumpalkan 67,8% total protein kedelai. Penggumpalan menggunakan asam menghasilkan tahu yang lebih lembut daripada tahu yang digumpalkan dengan penggumpal nigari atau kalsium sulfat (Aoyagi dan Shurtleff, 1979).

Produk bakteri asam laktat selain asam laktat ataupun asam asetat adalah bakteriosin, telah lama ditemukan dalam dunia mikrobiologi. Bakteriosin merupakan protein atau peptida yang memiliki aktivitas antimikroba yang disintesis oleh ribosom dan mengalami modifikasi pasca translasi (*post-translational modification*). Bakteriosin yang telah banyak dipelajari saat ini tidak hanya dihasilkan oleh bakteri gram negatif namun juga bakteri gram positif terutama bakteri asam laktat (Rodriguez *et al.*, 2002). Bakteriosin memiliki sifat bakterisidal terutama terhadap bakteri lain yang memiliki hubungan kekerabatan dekat dan dapat didegradasi oleh enzim protease sehingga aman digunakan sebagai pengawet pangan (Galvez *et al.*, 2007). Penggunaan bakteriosin pada susu, keju, sosis, udang segar, daging segar dan sayuran segar telah diteliti dan

terbukti dapat menekan pertumbuhan total bakteri pada produk tersebut selama penyimpanan pada suhu refrigerasi dapat ditekan. Bakteri kontaminan *Listeria monocytogenes* mengalami penurunan selama penyimpanan pada daging yang diberi *pediocin AcH* (Rodriguez *et al.*, 2002).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 dan produksi bakteriosin dalam *whey* tahu, pemanfaatan kultur *P. acidilactici* F-11 sebagai penggumpal pada pembuatan tahu dan mengetahui kualitas mikrobiologi dan organoleptik tahu selama penyimpanan pada suhu 4°C. Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat dalam perbaikan pengolahan tahu melalui penggunaan bahan penggumpal kultur *P. acidilactici* F-11 penghasil bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan total bakteri pada tahu sehingga diperoleh tahu dengan kualitas mikrobiologis dan organoleptik yang lebih baik daripada tahu dengan penggumpal kecutan alami.

BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan alat

Penelitian dilakukan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada pada bulan Juli 2007 sampai Maret 2008. Untuk pembuatan tahu digunakan kedelai kuning impor tanpa kulit yang diperoleh dari perusahaan tempe Pedro, Yogyakarta. Kultur murni *P. acidilactici* F-11 digunakan sebagai penghasil bakteriosin dan *P. acidilactici* LB-42 sebagai bakteri indikator, keduanya diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Penyimpanan kultur dilakukan pada suhu -20°C sebagai *frozen stock culture* dalam 10% skim dan 10% gliserol menggunakan *cryotube*. Media yang digunakan meliputi : TGE (*Tryptone Glucose Yeast Extract*) cair, *whey* hari ke-1 dari pabrik tahu CV. Kitagama, Prambanan, TGE agar lunak, PGY (*Peptone Glucose Yeast Extract*), dan PCA (*Plate Count Agar*). Bahan lain yang digunakan yaitu bahan kimia untuk analisis kimia dan bahan pembantu pengolahan tahu dan analisis. Peralatan yang digunakan meliputi inkubator, autoklaf, sentrifuse, spektrofotometer, pH meter, *refrigerator*, *Quebec Colony Counter*, *laminar air flow*, peralatan gelas dan peralatan pengolahan tahu.

B. Metode

1. Pengujian Komposisi Kimia Whey Tahu

Analisis kimia dilakukan terhadap *whey* untuk mengetahui komposisinya. Parameter yang diuji berupa pH, kadar gula total dan gula reduksi dengan metode *Nelson Somogyi*, kadar protein terlarut metode *Lowry* dan protein total

dengan metode *Kjehdal* dan kadar garam (NaCl) dengan metode argentometri (Sudarmadji, 2003).

2. Pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 dan Produksi

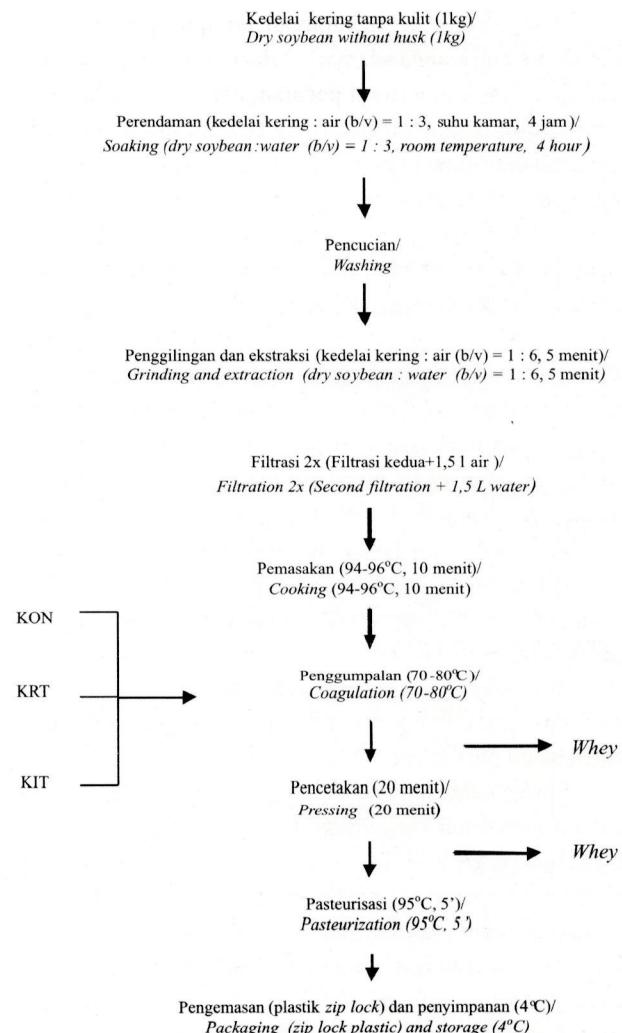
Bakteriosin Pada Media Whey Tahu

Bakteri *P. acidilactici* F-11 ditumbuhkan dalam media TGE cair, *whey* hari ke-1 steril dengan penambahan sukrosa 0% (LTN) dan 1% LTS (*low temperature sweetening*), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan sel berupa peningkatan intensitas kekeruhan dengan metode turbidimetri dan penghitungan jumlah sel dengan metode *dilution and plating* serta pengukuran pH setiap 4 jam. Pengujian aktivitas bakteriosin dilakukan melalui uji penghambatan pertumbuhan bakteri indikator *P. acidilactici* LB-42 dengan metode sumuran dan turbidimetri. Bakteri *P. acidilactici* F-11 ditumbuhkan dalam media TGE cair pada suhu kamar dan 37°C, *whey* hari ke-1 dengan penambahan sukrosa 0% dan 1% pada suhu kamar dan 37°C yang diinkubasi selama 24 jam. Uji penghambatan pertumbuhan bakteri indikator dengan metode sumuran dilakukan setiap 6 jam sedangkan pengujian dengan metode turbidimetri dilakukan 12 jam pertama sejak inokulasi.

Pengujian aktivitas bakteriosin dilakukan dengan mencampurkan supernatant *P. acidilactici* F-11 dari berbagai variasi media dan suhu inkubasi dengan media TGE cair *double strength* dengan perbandingan volume yang sama (v/v = 1:1). Bakteri indikator *P. acidilactici* LB-42 umur 18-24 jam sebanyak 2% diinokulasikan ke dalam media cair campuran antara supernatant dan TGE cair *double strength* dan diinkubasi pada suhu 37°C. Peneraan kekeruhan dilakukan setiap jam selama 12 jam pengamatan menggunakan spektrofotometer pada λ 600 nm. Kontrol yang digunakan adalah media TGE cair *single strength* yang telah diinokulasi dengan isolat *P. acidilactici* LB-42 sebanyak 2% tanpa penambahan supernatant. Penghambatan pertumbuhan *P. acidilactici* LB-42 diukur dengan melihat adanya perpanjangan fase lag dari inokulum yang diberi supernatant (Sarkono et al., 2006).

3. Pemanfaatan Kultur *P. acidilactici* F-11 Sebagai Penggumpal Pada Pembuatan Tahu

Variasi penggumpal yang dicobakan yaitu: (1) *Whey* yang terfermentasi secara alami selama semalam (KON); (2) Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada *whey* hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam (KIT), dan (3) Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada *whey* hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada



Gambar 1. Diagram Alir Pengolahan Tahu

Figure 1. Flowchart of tofu processing

Keterangan/Remarks :

KON = *Whey* yang terfermentasi secara alami selama semalam/
Whey spontaneously fermented overnight

KIT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada
whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan
diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam/*P. acidilactici*
F-11 culture inoculated in whey with addition of 1 %
sucrose and incubated at 37°C for 18 hours

KRT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada
whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan
diinkubasi pada suhu kamar selama 18 jam dengan *P.*
acidilactici F-11/ *culture inoculated in whey with*
addition of 1 % sucrose and incubated at room
temperature for 18 hours

suatu kamar selama 18 jam (KRT). Proses pengolahan tahu dilakukan berdasarkan proses yang digunakan CV. Kitagama (Gambar 1).

Tabel 1. Komposisi kimia whey tahu

Table 1. Chemical composition of tofu whey

| Komponen/ Compound | Kadar (% wb)/ Amount (%wb) |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| Gula reduksi/ Reducing sugar | 0,09 |
| Gula total/ Total sugar | 0,32 |
| Protein terlarut/ Soluble protein | 0,19 |
| Protein total/ Total protein | 0,20 |
| NaCl | 0,38 |
| pH | 5,5 ± 0,5 |

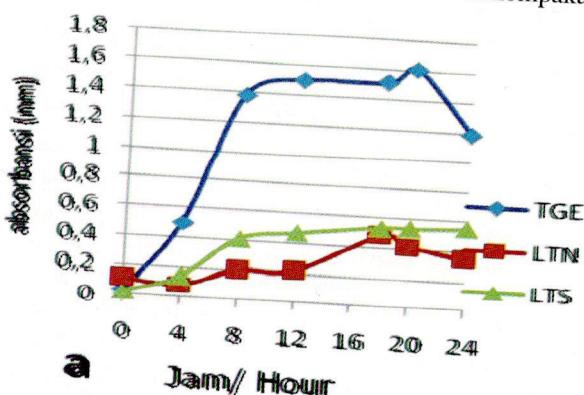
4. Pengamatan Kualitas Mikrobiologis dan Organoleptik Tahu Selama Penyimpanan Pada Suhu Refrigerasi (4°C)

a. Pengujian Kualitas Tahu Secara Mikrobiologis.

Pengujian tahu secara mikrobiologis menggunakan metode *Aerobic Plate Count* pada hari ke-0, 3, dan 6. Sampel tahu sebanyak 25 g dicampur dengan 225 ml larutan pepton, kemudian dihomogenisasi dan diencerkan hingga seri tertentu ditanam dengan metode *Pour Plate Overlay* pada media PCA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk dihitung dengan alat penghitung koloni dan dinyatakan dalam CFU/ml suspensi tahu kemudian dikonversi menjadi CFU/g tahu.

b. Pengujian kualitas tahu secara organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan pada hari ke-0, 3, 6 meliputi tekstur (kekompakan, kelunakan), pH, warna, flavor (bau langu, asam) dan kenampakan (ada tidaknya lendir) dengan metode *scoring*. Parameter kekompakan

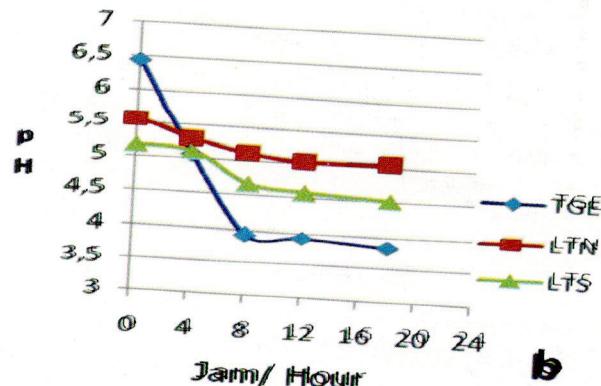


yang digunakan adalah 1 = sangat kompak, 2 = kompak, 3 = agak kompak, 4 = tidak kompak, 5 = sangat tidak kompak. Parameter kelunakan yang digunakan adalah 1 = sangat lunak, 2 = lunak, 3 = agak lunak, 4 = tidak lunak, 5 = sangat tidak lunak. Parameter warna yang digunakan adalah 1 = agak putih, 2 = putih, 3 = putih agak kekuningan, 4 = putih kekuningan, 5 = kuning. Parameter *flavor* (bau langu) yang digunakan adalah 1 = sangat tidak langu, 2 = tidak langu, 3 = agak tidak langu, 4 = langu, 5 = sangat langu. Parameter *flavor* asam yang digunakan adalah 1 = sangat tidak asam, 2 = tidak asam, 3 = agak tidak asam, 4 = asam, 5 = sangat asam. Sedangkan kenampakan (ada tidaknya lendir) dinilai tanpa menggunakan skor. Kenampakan diamati dengan cara meraba permukaan tahu dengan tangan, tahu dikatakan berlendir jika permukaannya licin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 dan produksi bakteriosin pada media Whey tahu

Dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa *P. acidilactici* F-11 mampu memproduksi bakteriosin (Muttarokah, 2002 ; Rahayu *et al.*, 2004). Bakteriosin dapat diproduksi pada media TGE cair dengan komposisi 1% glukosa, 1% tripton, 1% yeast ekstrak dan mineral MnSO₄ dan MgSO₄ masing-masing sebesar 0,005%. Peningkatan kadar tripton, ekstrak yeast, dan MgSO₄ sebesar dua kali lipat akan meningkatkan produksi bakteriosin sebesar 10-20% (Ray, 1992). Dari hasil analisis kimia whey (Tabel 1), kadar gula, protein dan mineral (NaCl) pada whey tahu lebih kecil daripada kadar nutrien dalam

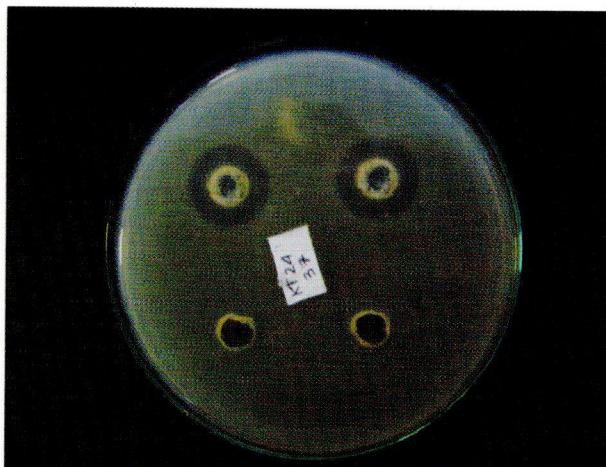


Gambar 2. (a) Kurva pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 pada suhu 37°C (b) pH media selama pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 pada suhu 37°C
Figure 2 (a) Growth curve of *P. acidilactici* F-11 at 37°C (b). pH of media during growth of *P. acidilactici* F-11 at 37°C

Keterangan/ Remarks : TGE : Tripton Glukosa Yeast Ekstrak/ Tripton Glucosa Yeast Extract

LTN : whey tanpa sukrosa/ whey without sucrose

LTS : whey dengan 1% sukrosa/ whey with 1% sucrose



Gambar 3. Uji aktivitas kultur dan supernatant *P. acidilactici* F-11 dengan indikator *P. acidilactici* LB-42

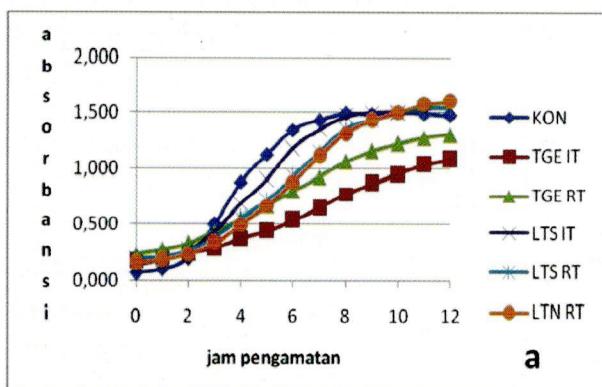
Figure 3. Activity test of culture and supernatant of *P. acidilactici* F-11 using *P. acidilactici* LB-42 as indicator

TGE cair. Dalam TGE cair, glukosa, tripton, yeast ekstrak dan mineral Mg^{2+} serta Mn^{2+} berada dalam jumlah cukup untuk menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat.

Kelemahan whey sebagai media fermentasi adalah kadar gula reduksi yang rendah dan kadar gula total yang tidak mencapai 1%. Untuk itu dilakukan modifikasi berupa penambahan sumber karbon untuk meningkatkan pertumbuhan sel. Selain itu, whey juga memiliki pH dibawah pH optimum untuk pertumbuhan *P. acidilactici*. Namun demikian, *P. acidilactici* toleran terhadap pH 4,2 dan 7,5 (Ray dan Hoover, 1993). Meskipun sukrosa merupakan gula non reduksi, *P. acidilactici* diketahui dapat menggunakan sukrosa sebagai sumber karbon

(Gilliland, 1985). Penambahan sukrosa dapat meningkatkan jumlah sumber karbon sebagai sumber energi untuk pertumbuhan sel sehingga produksi metabolit primer ataupun sekunder akan mengalami peningkatan. Menurut Ray (1992), sumber gula terbaik untuk produksi bakteriosin oleh *P. acidilactici* adalah glukosa dan sukrosa sebesar 1%.

Kemungkinan pemanfaatan whey sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat telah dilakukan Thi et al. (2003). Dilaporkan bahwa penggunaan whey (mengandung stakiosa, rafinosa, sukrosa, fruktosa dan glukosa) yang ditambah dengan yeast extract, garam (fosfat, sitrat, magnesium, dan Mangan), glukosa dan tween dapat menumbuhkan kultur *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* LG3 dengan populasi $2,9 \times 10^9$ cfu/ml, sama dengan yang ditumbuhkan dalam media MRS cair. Kato et al. (1999) menggunakan *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IFO12007 sebagai kultur starter pada fermentasi miso. *Lc lactis* tumbuh dengan cepat pada kedelai yang dimasak (lebih dari 10^9 cells/g) dan memproduksi nisin dengan aktivitas yang tinggi ($1,28 \times 10^5$ AU/g) dan dapat menghambat pertumbuhan *B. subtilis* (10^6 cells/g) yang ditambahkan pada awal fermentasi. Menurut Ghofar et al. (2005), berdasarkan karakteristik fermentasi (konsentrasi L-asam laktat (C_{La}), produktivitas L-asam laktat (P_{La}); laju pertumbuhan spesifik ($\dot{\gamma}$) dan hasil total (ζ)) substrat berupa bubur kasava segar dengan limbah cair tahu (whey) sebagai media dasar, potensial digunakan sebagai media fermentasi *Streptococcus bovis* untuk menghasilkan L-asam laktat



Gambar 4. Kurva penghambatan pertumbuhan *P. acidilactici* LB42 oleh supernatant *P. acidilactici* F-11 menggunakan metode turbidimetri (a) supernatant tanpa netralisasi (b) supernatant dengan netralisasi

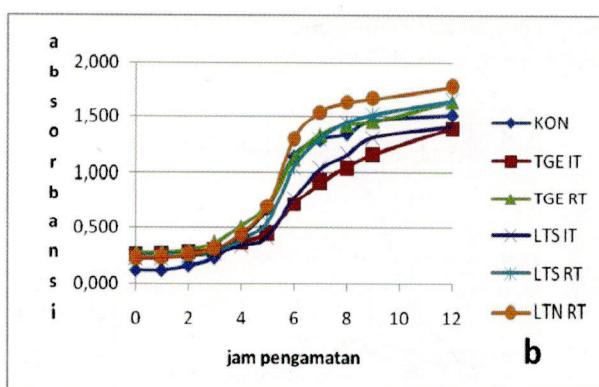
Figure 4. Curve of growth inhibition of *P. acidilactici* LB42 by *P. acidilactici* F-11 using turbidimetry method (a) supernatant without neutralization (b) supernatant with neutralization

Keterangan/Remarks :

KON = Whey yang terfermentasi secara alami selama semalam/Whey spontaneously fermented overnight

KIT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam/*P. acidilactici* F-11 culture inoculated in whey with addition of 1% sucrose and incubated at 37°C for 18 hours

KRT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu kamar selama 18 jam dengan *P. acidilactici* F-11/ culture inoculated in whey with addition of 1% sucrose and incubated at room temperature for 18 hours



Pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 dalam media *whey* tidak sebaik dalam media TGE cair (Gambar 2a). Pemilihan media TGE cair sebagai media fermentasi referensi karena dalam TGE cair tidak terdapat senyawa yang berfungsi sebagai buffer. Selama proses fermentasi berlangsung, produksi metabolit primer berupa asam akan menurunkan pH lingkungan. Rendahnya pH lingkungan menyebabkan bakteriosin aktif yang dihasilkan *P. acidilactici* F-11 yang masih menempel pada dinding sel terlepas ke lingkungan (Ray dan Hoover, 1993).

Gambar 2b memperlihatkan bahwa selama pertumbuhan *P. acidilactici* F-11, penurunan pH dalam media TGE cair lebih tajam daripada media *whey*. Penurunan pH selama pertumbuhan disebabkan oleh metabolit primer berupa asam organik yang dihasilkan. TGE cair memiliki pH awal 6,5 yang merupakan pH ideal untuk pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 dan setelah proses fermentasi selama 24 jam dicapai pH akhir 3,9. Pada media *whey*, pH awal yang rendah tidak menghambat pertumbuhan *P. acidilactici* F-11. Faktor pembatas pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 adalah sumber karbon yang rendah. Penambahan 1% sukrosa dalam *whey* mampu meningkatkan pertumbuhan *P. acidilactici* F-11. Akibatnya, jumlah metabolit asam yang dihasilkan juga lebih banyak sehingga pH akhir fermentasi yang dicapai lebih rendah daripada pH akhir fermentasi *whey* tanpa penambahan sukrosa. *Whey* merupakan limbah dari pengolahan tahu, sehingga penggunaannya diharapkan lebih ekonomis daripada media TGE cair.

Pengujian difusi agar memperlihatkan adanya zona jernih di sekitar lubang sumuran dengan pinggiran (bentuk lingkaran) yang jelas pada pengujian menggunakan kultur dalam *whey* dengan penambahan 1% sukrosa, sedangkan pengujian dengan supernatan, tidak memperlihatkan adanya zona jernih di sekitar lubang sumuran (Gambar 3). Menurut Ray (1992), bentuk lingkaran zona jernih yang

Tabel 2. Nilai pH penggumpal tahu
Table 2. The pH of tofu coagulants

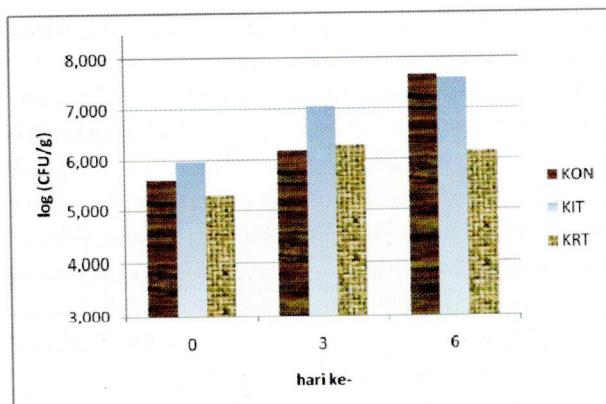
| Penggumpal/ Coagulant | pH |
|--|------|
| <i>Whey</i> yang terfermentasi secara alami selama semalam (KON)/ <i>Whey in overnight spontaneously fermentation (KON)</i> | 3,91 |
| Kultur <i>P. acidilactici</i> F-11 yang diinokulasikan pada <i>whey</i> hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam (KIT) <i>P. acidilactici F-11 culture inoculated in whey with addition 1 % sucrose and incubated at 37°C for 18 hours (KIT)</i> | 4,22 |
| Kultur <i>P. acidilactici</i> F-11 yang diinokulasikan pada <i>whey</i> hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu kamar selama 18 jam (KRT) <i>P. acidilactici F-11 culture inoculated in whey with addition 1 % sucrose and incubated at room temperature for 18 hours (KRT)</i> | 4,40 |

tidak begitu jelas dan agak pudar menunjukkan bahwa metabolit yang berperan sebagai bakterisidal adalah asam. Sebaliknya metabolit lain yang bersifat sidal seperti bakteriosin akan memberikan zona jernih dengan bentuk lingkaran yang jelas. Pemakaian sebagai bakteri indikator untuk membuktikan bahwa metabolit yang dihasilkan adalah bakteriosin. Hal ini didasarkan pada sifat *P. acidilactici* LB-42 yang sensitif terhadap bakteriosin tetapi tahan terhadap asam. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa sel *P. acidilactici* F-11 dalam TGE cair dan *whey* menghasilkan bakteriosin.

Pada penelitian ini, identifikasi ditujukan terutama untuk mengetahui aktivitasnya dalam mematikan atau menghambat pertumbuhan bakteri pathogen atau pembusuk, sehingga analisis yang dilakukan adalah uji biologi (*bioassay*). Uji lanjut untuk mengetahui kuantitas aktivitas bakteriosin dinyatakan dalam AU (Aktivitas Unit)/ml. Aktivitas pediosin PAF-11(AU/ml) = faktor pengenceran tertinggi yang menghasilkan zona jernih x 1000ml/volume sampel.

Pengujian aktivitas bakteriosin dengan metode turbidimetri tanpa neutralisasi (Gambar 4a) memperlihatkan bahwa *slope* pertumbuhan bakteri indikator dalam media TGE cair yang dicampur dengan supernatan *P. acidilactici* F-11 dari media TGE cair ataupun *whey* dengan penambahan sukrosa 0% dan 1% lebih datar dibandingkan bakteri indikator yang ditumbuhkan dalam media TGE cair yang diinkubasi pada suhu 37°C. Hal ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri indikator oleh supernatan *P. acidilactici* F-11 dari media TGE cair ataupun *whey* dengan penambahan sukrosa 0% dan 1%.

Pengujian aktivitas bakteriosin dengan metode turbidimetri dengan neutralisasi (Gambar 4a) menunjukkan bahwa penghambatan pertumbuhan bakteri indikator dilakukan oleh supernatan yang berasal dari media TGE dan *whey* dengan penambahan 1% sukrosa yang diinkubasi pada suhu 37°C. Dengan neutralisasi, perpanjangan fase lag yang terjadi bukan karena efek asam organik hasil metabolisme melainkan metabolit lain yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat satu spesies. Dari penelitian Nugroho (2001) dan Rahayu *et al.* (2004), strain *P. acidilactici* F-11 diketahui mampu menghasilkan bakteriosin. Dengan demikian penghambatan pada Gambar (4b) dilakukan oleh bakteriosin. Menurut Ray dan Hoover (1993) bakteriosin dari spesies *Pediococcus* bersifat bakterisidal terhadap sel bakteri gram positif yang sensitif. Molekul bakteriosin memiliki aktivitas keterikatan yang tinggi pada permukaan sel. Bakteriosin akan diabsorbsi oleh membran sel yang sensitif. Bakteriosin yang telah terikat akan kontak dengan membran sitoplasma dan mendestabilisasi fungsi membran sitoplasma sehingga viabilitas sel menurun.



Gambar 6. Pengujian *Aerobic Plate Count* tahu selama penyimpanan pada suhu 4°C

Figure 6. *Aerobic Plate Count test of tofu during storage at 4°C*

KON=Whey yang terfermentasi secara alami selama semalam/
Whey spontaneously fermented overnight

KIT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam/ *P. acidilactici* F-11 culture inoculated in whey with addition of 1 % sucrose and incubated at 37°C for 18 hours

KRT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu kamar selama 18 jam dengan *P. acidilactici* F-11/ *culture inoculated in whey with addition of 1 % sucrose and incubated at room temperature for 18 hours*

Efek penghambatan tidak terlihat pada supernatan netral yang berasal dari media TGE dan whey dengan penambahan 1% sukrosa yang diinkubasi pada suhu kamar. Pertumbuhan bakteri indikator dalam media TGE yang dicampur dengan supernatan tersebut hampir sama dengan pertumbuhan bakteri indikator tanpa penambahan supernatan. Hal ini disebabkan produksi bakteriosin yang rendah selama fermentasi pada suhu kamar sehingga efek penghambatan (sidal) terhadap pertumbuhan bakteri indikator pun sangat rendah.

2. Pemanfaatan Kultur *P. acidilactici* F-11 Dalam Whey Dengan Penambahan 1% Sukrosa Sebagai Penggumpal Pada Pembuatan Tahu

Tahu merupakan hasil dari presipitasi protein kedelai yang tidak dapat melarut kembali. Jika pH sari kedelai dibuat pada pH isoelektrik maka protein akan mengalami presipitasi kemudian penggumpalan. Dari Tabel 2 terlihat bahwa pH akhir penggumpal dari kultur *P. acidilactici* F11 (KIT dan KRT) setelah inkubasi berada pada kisaran pH isoelektrik protein yang dominan pada kedelai, yaitu globulin dengan titik isolelektrik pada pH 4,2-4,6 (Smith dan Circle, 1972). Hal ini menunjukkan bahwa kultur *P. acidilactici* F11 (KIT dan KRT) dapat dimanfaatkan

sebagai penggumpal pada pembuatan tahu.

Jika pH sari kedelai dipertahankan pada pH isoelektrik maka protein akan mengalami penggumpalan. Penggumpalan merupakan pembentukan gel protein. Mekanisme penggumpalan karena asam adalah reaksi antara muatan positif ion H⁺ dengan muatan negatif dari gugus fungsional protein sehingga protein saling berikatan membentuk gel. Untuk membantu proses denaturasi protein, sari kedelai dipanaskan hingga mendidih selama 10 menit. Denaturasi menyebabkan protein sari kedelai mengalami perubahan struktur sekunder, tersier dan kuarter. Lapisan molekul protein bagian dalam yang bersifat hidrofobik akan berbalik ke arah luar sedangkan bagian luar yang bersifat hidrofilik akan terlipat ke dalam sehingga kelarutan protein berkurang (Winarno, 2002).

Pemanfaatan kultur bakteri asam laktat sebagai penggumpal tahu telah dilakukan Ounis *et al.* (2008). Whey tahu merupakan sumber yang baik untuk karbohidrat, terutama sukrosa, rafinosa dan stakiosa, juga protein dan magnesium (dari koagulan). Dilaporkan bahwa whey tahu yang telah dikurangi kadar protein dan mineralnya dengan elektromembran (*demineralized skimmed tofu whey*) merupakan media pertumbuhan potensial yang murah untuk *Lactobacillus plantarum* LB17 dan dapat digunakan sebagai koagulan, dan protein yang diperoleh dapat digunakan lagi dalam pengolahan tahu untuk meningkatkan rendemen.

Susanti (1999) memanfaatkan kultur bakteri homofermentatif *Lactobacillus bulgaricus* dan bakteri heterofermentatif *Leuconostoc dextranicum* sebagai penggumpal pada pengolahan tahu. Asam sitrat ditambahkan pada bakteri laktat hetero fermentatif yang diharapkan memproduksi aroma khas diasetil. Penggumpalan susu kedelai yang paling baik terjadi pada pH awal 5,0 dengan volume kultur penggumpal 15% v/v (dengan perbandingan kultur *L. bulgaricus* dan *L. dextranicum* 1:1), dan produk tahu yang diperoleh memiliki aroma diasetil (70% panelis) dan memiliki tingkat kesukaan pada taraf biasa (60% panelis). Yuwono dan Kokugan (2008) melakukan produksi asam laktat dari kasava segar menggunakan *Streptococcus bovis* dalam media limbah cair tahu (*tofu liquid waste*), dan melaporkan bahwa suhu 39°C dan pH 5,5, merupakan kondisi optimal untuk konsentrasi asam laktat, produktivitas dan laju pertumbuhan spesifik.

Salah satu keunggulan penggunaan whey adalah kandungan komponen fungsional isoflavon, oligosakarida, peptida dan saponin. Komponen tersebut dapat diperoleh kembali dari whey dengan cara separasi menggunakan nanofiltrasi hingga diperoleh powder whey

Tabel 3. Uji organoleptik tahu secara kuantitatif dan kualitatif selama masa simpan pada suhu 4°C.
Table 3. Quantitative and qualitative sensory evaluation of tofu during storage at temperature 4°C.

| Karakteristik/ Characteristic | Tahu/ Tofu KON | | | Tahu / Tofu KIT | | | Tahu / Tofu KRT | | |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | Hari/ day 0 | Hari/ day 3 | Hari/ day 6 | Hari/ day 0 | Hari/ day 3 | Hari/ day 6 | Hari/ day 0 | Hari/ day 3 | Hari/ day 6 |
| Bau langu/ <i>Beany-flavour</i> | 2,5 ^a | 2,6 ^a | 2,4 ^a | 2,4 ^a | 3,1 ^a | 2,2 ^a | 2,6 ^a | 3,0 ^a | 2,2 ^a |
| Flavor asam/ <i>Sour flavour</i> | 2,8 ^b | 2,8 ^b | 2,2 ^b | 1,8 ^a | 2,4 ^a | 1,2 ^a | 2,2 ^a | 2,5 ^a | 1,2 ^a |
| Warna/ <i>Colour</i> | 2,2 ^a | 2,9 ^a | 3,0 ^a | 2,7 ^a | 2,9 ^a | 3,2 ^a | 2,4 ^a | 2,5 ^a | 3,2 ^a |
| Kekompakan/ <i>Firmness</i> | 1,2 ^{a*} | 1,4 ^a | 1,5 ^a | 2,5 ^b | 2,1 ^b | 2,3 ^b | 2,5 ^b | 1,9 ^{a,b} | 2,2 ^b |
| Kelunakan/ <i>Smoothness</i> | 4,1 ^b | 3,9 ^b | 3,8 ^b | 2,9 ^a | 2,8 ^a | 3,6 ^b | 2,4 ^a | 2,6 ^a | 2,4 ^a |
| pH | 5,2 | 5,27 | 5,83 | 5,78 | 5,63 | 5,82 | 5,83 | 5,82 | 5,89 |
| Kenampakan/ <i>Appearance</i> | Tidak berlendir | Tidak berlen | Tidak berlendir | berair |

*) tanda huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada $\alpha 5\%$ / Numbers followed by the same letters were not significantly different at $\alpha 5\%$

KON = Whey yang terfermentasi secara alami selama semalam/Whey spontaneously fermented overnight

KIT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam/*P. acidilactici* F-11 culture inoculated in whey with addition of 1 % sucrose and incubated at 37°C for 18 hours

KRT = Kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinokulasikan pada whey hari ke-1 dengan penambahan 1% sukrosa dan diinkubasi pada suhu kamar selama 18 jam dengan *P. acidilactici* F-11/ culture inoculated in whey with addition of 1 % sucrose and incubated at room temperature for 18 hours

tahu dan dapat disatukan dalam formula produk pangan untuk meningkatkan nilai nutrisi (Bazinet *et al.*, 1999; Chung *et al.*, 2005).

3. Kualitas Tahu Secara Mikrobiologi Dan Organoleptik Selama Penyimpanan Pada Suhu 4°C

a. Pengujian Kualitas Tahu Secara Mikrobiologis Selama Penyimpanan Suhu 4°C

Pengujian Aerobic Plate Count tahu selama penyimpanan pada suhu 4°C (Gambar 6) memperlihatkan bahwa pada hari ke 0, tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu kamar (KRT) memiliki jumlah total bakteri terendah sedangkan tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu 37°C (KIT) memiliki jumlah total bakteri lebih tinggi. Hal ini disebabkan jumlah total bakteri starter KIT yang lebih tinggi, dengan nilai pHnya yang lebih rendah (Tabel 2). Menurut Ray (1996), bakteri *P. acidilactici* memiliki sifat tahan terhadap suhu pasteurisasi sehingga perebusan tahu tidak membunuh semua bakteri *P. acidilactici* yang berasal dari penggumpal. Banyaknya jumlah bakteri starter pada penggumpal membuat bakteri yang terperangkap dalam

gel protein juga semakin banyak. Total bakteri pada tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu 37°C (KIT) juga sedikit lebih tinggi dibandingkan tahu dengan penggumpal whey (KON). Hal ini disebabkan volume penggumpal whey untuk menggumpalkan tahu berlebih dengan pH yang lebih rendah. Pada pH mendekati titik isoelektrik, gaya tarik antar protein semakin besar sehingga gel yang terbentuk cenderung menyusut dan air yang terperangkap dalam gel protein banyak terlepas. Terlepasnya air dari gel protein menyebabkan mikrobia yang tersuspensi dalam cairan penggumpal ataupun dari media air yang ada dalam sari kedelai keluar dari gel protein.

Pada hari ke-3 terjadi peningkatan total bakteri sebesar 1 log cycle pada tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu 37°C (KIT) dan tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu kamar (KRT). Pada tahu dengan koagulan whey (KON) peningkatan total bakteri sebesar 0,6 log cycle. Hal ini disebabkan kadar asam dalam penggumpal whey (KON) yang lebih tinggi yang ditunjukkan dengan nilai pH yang lebih rendah (Tabel 2), sehingga lebih menghambat pertumbuhan bakteri dibanding dua penggumpal yang lain tersebut.

Pada hari ke-6, terjadi peningkatan total bakteri $0,5 \log cycle$ pada tahu dengan penggumpal kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu 37°C (KIT) dan $1,5 \log cycle$ pada tahu dengan penggumpal *whey* (KON). Tahu dengan penggumpal kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu kamar (KRT) mengalami penurunan total bakteri sebesar $0,1 \log cycle$ terhadap hari ke-3.

Jumlah total bakteri yang relatif stabil pada hari ke-3 hingga hari ke-6 pada tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 pada suhu 37°C dan suhu kamar disebabkan oleh aktivitas metabolit dalam penggumpal yang terperangkap dalam gel protein khususnya bakteriosin yang dihasilkan oleh sel *P. acidilactici* F-11 pada saat fermentasi dalam media *whey*. Aktivitas bakteriosin (pediosin) tidak mengalami penurunan selama 8 minggu pada suhu refrigerasi ($\pm 4^\circ\text{C}$) (Nugroho, 2001).

Ditinjau dari hasil analisis APC, jumlah mikroba yang masih memenuhi kriteria SNI hingga hari ke-6 adalah tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 yang diinkubasi pada suhu kamar (KRT).

b. Pengujian Kualitas Tahu Secara Organoleptik Selama Penyimpanan Suhu 4°C .

Berdasarkan SNI No. 01-3142-1992 revisi SII 0270-80 (Anonymous, 1992), parameter yang menentukan kualitas tahu antara lain bau dan rasa, warna dan penampakan. Berdasarkan Standar tersebut, kualitas tahu yang baik mempunyai bau dan rasa normal. Hal ini berarti bahwa tidak diinginkan adanya bau langus pada tahu. Dari hasil pengujian organoleptik terlihat bahwa ketiga jenis tahu memiliki tingkat bau langus yang tidak berbeda selama penyimpanan (Tabel 3). Dilihat dari parameter flavor asam, ternyata tahu kontrol memiliki nilai *flavor* asam lebih tinggi dari pada tahu dengan penggumpal kultur *P. acidilactici* F-11. Hal ini sesuai dengan hasil pengujian pH tahu, yaitu bahwa selama penyimpanan tahu KON memiliki pH rata-rata 5,43 berbeda nyata dengan tahu KIT (pH 5,74) dan KRT (pH 5,84).

Menurut SNI tersebut (Anonymous, 1992), tahu yang berkualitas berwarna putih atau kuning bersih. Hal serupa dinyatakan Cai dan Chang (1998), bahwa tahu yang diinginkan konsumen adalah tahu yang berwarna putih atau kuning dengan intensitas sangat rendah (pucat). Dari hasil pengujian organoleptik, ketiga tahu memiliki warna putih yang cenderung menuju putih agak kekuningan. Warna tahu dengan ketiga macam penggumpal tidak berbeda nyata selama penyimpanan. Namun intensitas warna putih menuju putih agak kekuningan pada ketiga tahu mengalami peningkatan selama penyimpanan. Perubahan intensitas warna dapat disebabkan oleh pertumbuhan bakteri kontaminan pada tahu yang dapat memproduksi pigmen. Menurut Matsuzawa *et al.* (1998), bintik kuning (perubahan warna tahu) disebabkan oleh

Leuconostoc mesenteroides subsp. *mesenteroides* yang tahan terhadap pemanasan dan memiliki kemampuan bertahan hidup pada suhu refrigerasi.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa tahu kontrol sangat lebih kompak daripada tahu yang diperoleh dari penggumpal kultur *P. acidilactici* F-11 pada suhu 37°C dan suhu kamar. Intensitas kekompakan dapat dipengaruhi oleh berat beban yang digunakan selama pencetakan dan pengepresan, varietas kedelai, tipe penggumpal dan konsentrasi penggumpal (Cai dan Chang, 1998). Tahu kontrol memiliki atribut tekstur yang sangat kompak karena konsentrasi asam penggumpal yang lebih tinggi. Derajat keasaman tinggi menyebabkan gaya tarik antar protein makin besar yang membuat jaringan gel protein yang terbentuk semakin kokoh dan air yang terperangkap semakin sedikit.

Selama penyimpanan 6 hari, tingkat kekompakan tahu cenderung tidak berubah. Hal ini menunjukkan bahwa tahu belum mengalami kerusakan. Salah satu kerusakan yang terjadi pada tahu adalah menurunnya sifat fisik tahu dari kompak menjadi lembek. Hal ini disebabkan oleh pertumbuhan bakteri kontaminan dalam tahu yang menggunakan protein dan mendegradasi protein menjadi senyawa sederhana. Akibatnya ikatan-ikatan kiri ia dalam gel protein menjadi terputus-putus.

Dari hasil pengujian statistik, tahu kontrol kurang lunak dibandingkan tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 pada suhu 37°C dan suhu kamar. Tahu yang disukai konsumen adalah tahu yang lunak, lembut dan elastis. Intensitas kelunakan dipengaruhi tipe penggumpal yang berkaitan dengan tipe anion dan konsentrasi penggumpal (Prabhakaran *et al.*, 2005). Tingkat kelunakan tahu juga dipengaruhi kemampuan protein dalam mengikat air (*water holding capacity*) (Hou *et al.*, 1997). Hal ini dapat dikaitkan dengan pH penggumpal. Derajat keasaman penggumpal yang tinggi (pada tahu kontrol) membuat protein sari kedelai lebih cepat berada pada titik isoelektriknya dan mendonorkan banyak proton. Hal ini menyebabkan perubahan struktur protein lebih cepat terjadi semakin banyak sisi hidrofobik yang terpapar keluar. Ikatan hidrogen semakin banyak yang terputus karena terganggu stabilitasnya oleh proton dari penggumpal. Hal ini mengakibatkan penurunan kemampuan pengikatan air (*water holding capacity*) sehingga struktur protein yang terbentuk semakin kompak dan menghasilkan tahu kurang lunak (Cai dan Chang, 1998).

Tingkat kelunakan tahu pada hari terakhir penyimpanan cenderung tetap untuk tahu kontrol dan tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 pada suhu kamar sebagai penggumpal. Sedangkan tahu yang digumpalkan dengan kultur *P. acidilactici* F-11 pada suhu 37°C memiliki tingkat kelunakan yang menurun pada hari

ke-6. Hal ini dapat disebabkan oleh terjadinya sineresis pada tahu yang berarti semakin sedikit jumlah air yang berada dalam jaringan gel protein tahu.

Standar kualitas tahu menurut SNI yaitu mempunyai kenampakan normal tidak berjamur dan tidak berlendir. Kenampakan tahu pada hari ke-0, 3 dan 6 belum menunjukkan adanya lendir. Perubahan kenampakan pada ketiga tahu yang tampak hari ke-3 adalah keluarnya air dari tahu (sineresis). Namun demikian, sineresis bukan merupakan parameter kerusakan tahu. Salah satu parameter kerusakan tahu adalah air rendaman tahu ataupun air yang keluar dari tahu berwarna keruh selama penyimpanan. Kekeruhan dapat disebabkan terdegradasinya komponen nutrisi tahu menjadi molekul sederhana yang bersifat larut dalam air yang dapat disebabkan aktivitas mikroba perusak tahu.

KESIMPULAN

1. Whey tahu dengan penambahan 1% sukrosa dapat digunakan sebagai media pertumbuhan *P. acidilactici* F-11 dan produksi bakteriosin.
2. Kultur *P. acidilactici* F-11 dalam whey dengan penambahan 1% sukrosa yang diinkubasi pada suhu 37°C dan suhu kamar selama 18 jam dapat digunakan sebagai penggumpal pada pembuatan tahu.
3. Tahu hasil penggumpalan oleh kultur *P. acidilactici* F-11 dalam whey yang diinkubasi pada suhu kamar memiliki total bakteri terendah selama penyimpanan yang sesuai dengan standar SNI.
4. Tahu dengan penggumpal kultur *P. acidilactici* F-11 memiliki kualitas warna dan bau yang tidak berbeda nyata dengan menggunakan penggumpal whey yang terfermentasi secara alami, tetapi memiliki kualitas flavor dan kelunukan yang lebih baik.
5. Penggunaan kultur *P. acidilactici* F-11 sebagai penggumpal tahu dapat meningkatkan kualitas tahu baik dari segi mikrobiologis maupun organoleptik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1992. Standar Nasional Indonesia. Dewan Standarisasi Nasional.
- Bazinet L., D. Ippersiel and F. Lamarche. 1999. Recovery of magnesium and protein from soy tofu whey by electrodialytic configurations. *Journal of chemical technology and biotechnology*, 74(7): 663-668.
- Cai, T. D. and K. C. Chang. 1998. Characteristics of production-scale tofu as affected by soymilk coagulation method : propeller blade size, mixing, time and coagulant concentration. *Food Research International* 31(4):289-295.
- Chung H.J., J.Y. Jung and W. J. Kim. 2005. Preparation of muffins added with tofu whey concentrates separated by nanofiltration. Paper presented in IFT Annual Meeting, July 15-20- 2005 - New Orleans, Louisiana.
- Galvez, A., H. Abriouel, R.L. Lopez, and N. B. Omar. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120 :51-70.
- Gilliland, S. E. 1985. *Bacterial Starter Cultures for Foods*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Hou, H. J., K. C. Chang, and M.C. Shih. 1997. Yield and textural properties of soft tofu as affected by coagulation method. *Journal of Food Science* 62 (4):824-827
- Kato T., K. Maeda, H. Kasuya and T. Matsuda. 1999. Complete growth inhibition of *Bacillus subtilis* by nisin-producing Lactococci in fermented soybeans. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63 (4): 642-647.
- Matsuzawa, K., S. Yamanaka, H. Yamashita, T. Yamaguchi, O. Ueda and T. Terashita. 1998. Isolation and identification of a microorganism from juten-tofu with yellow spots (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*). *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. 45(1):66-68.
- Nugroho, D. A. 2001. Ekstraksi dan Karakterisasi Bakteriosin yang Dihasilkan oleh *Leuconostoc* SM 22. Skripsi Program Studi Teknologi Hasil Pertanian UGM. Yoyakarta
- Ounis, W.B., C.P. Champagne, J. Makhlouf and L. Bazinet. 2008. Utilization of tofu whey pre-treated by electromembrane process as a growth medium for *Lactobacillus plantarum* LB17. *Desalination*, 229(1-3):192-203
- Prabhakaran, M. P., C. O. Perera and S. Valiyaveettil. 2006. Effect of different coagulants on the isoflavone levels and physical properties of prepared firm tofu. *Food Chemistry* 99: 492-499.
- Rahayu, E. S. 1992. Karakterisasi Kerusakan Tahu. Laporan penelitian FTP UGM. Yogyakarta.
- Rahayu, E. S., E. Harmayani, T. Utami dan K. Handarini. 2004. *Pediococcus acidilactici* F11 penghasil bakteriosin sebagai agensi biokontrol *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada sayuran segar simpan dingin. *Agritech* 24 (3):113-124.
- Ray, B. 1992. Pediocin(s) of *P. acidilactici* as a Food Biopreservative. In *Food Biopreservatives of Microbial Origin*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida
- Ray, B. And D.G. Hoover. 1993. Pediocins. In *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Academic Press, Inc. California
- Ray, B. 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida
- Rodriguez, J. M., M.I. Marlinez and J. Kok. 2002. Pediocin PA-1, a wide spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr* (42):91-121
- Sarkono, L. Sembiring and E.S. Rahayu. 2006. Isolasi, seleksi, karakterisasi dan identifikasi bakteri asam laktat penghasil bakteriosin dari berbagai buah masak. *Sains dan Sibernatika* 19 (2):223-242.
- Sardjono dan R. Kasmidjo. 1992. Proses Pembuatan Tahu Asin dan Optimasinya. Laporan penelitian FTP UGM. Yogyakarta.
- Shurtleff, W. and Aoyagi, A. 1979. *The Book of Tofu*. New York: Ballantine Books.
- Smith, K. and C.J. Circle. 1972. *Soybean : Chemistry and Technology*. The AVI Publishing Co. Inc. Westport, Connecticut.

- Sudarmadji, S. 2003. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta. Yogyakarta.
- Susanti, E. 1999. Penggunaan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Leuconostoc dextranicum* dalam penggumpalan tahu beraroma diasetil. Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) – ITB, Bandung.
- Thi, L.N., C.P. Champagne, B.H. Lee and J. Goulet. 2003. Growth of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* on tofu whey. *International Journal of Food Microbiology*, 89(1):67-75
- Winarno, F. G. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.