



Potensi Serat Pangan Proso Milet (*Panicum miliaceum* L.) Terpraproses dalam Menstimulasi Pertumbuhan *Lactobacillus rhamnosus* SKG34

*Potential of Preprocessed Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) Dietary Fiber in Stimulating the Growth of *Lactobacillus rhamnosus* SKG34*

I Desak Putu Kartika Pratiwi*, Gusti Ayu Kadek Diah Puspawati, Komang Ayu Nocianitri

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud Bukit Jimbaran Badung, Bali, Indonesia

*Korespondensi Penulis: kartika.pratiwi@unud.ac.id

Submisi: 11 Januari 2022, Review: 16 April 2022, Diterima (Accepted): 30 Juni 2023

ABSTRACT

*Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) was evaluated as a source of dietary fiber. Preprocessing of millet flour could increase dietary fiber. The dietary fiber is considered to provide benefits as a prebiotic. The purpose of this study was to analyze the effect of preprocessing on millet flour dietary fiber and its ability to stimulate the growth of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* SKG34. The research was conducted in two stages, i.e. preprocessing millet flour and viability of probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus* SKG34) on different broth media. First, millet flour was made in various preprocessed method: without preprocessing, germination preprocessing, fermentation preprocessing, germination – fermentation preprocessing. Second, the viability of *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 was carried out on various media broth: glucose-free MRS (control), MRS, adding dietary fibers extract from millet flour with different preprocessing. The results showed that millet flour with fermented preprocessing (F) provided the highest dietary fiber of 22.38% with a water content of 11.97% and a tannin content of 0.08%. *L. rhamnosus* SKG34 exhibited the highest viability when grown in MRS broth. The addition of dietary fiber extract did not significantly enhance the viability of *L. rhamnosus* SKG34 compared to the glucose-free MRS broth (control), which showed a viability of $5 \log_{10}$ CFU/mL. Thus, it can be concluded that millet preprocessing with fermentation (F) can significantly increase the dietary fiber of millet flour. However, dietary fiber millet has no potential as a suitable prebiotic candidate for promoting probiotic bacterial growth.*

Keywords: dietary fiber, lactic acid bacteria, millet flour, prebiotic, preprocessed

PENDAHULUAN

Proso milet merupakan jenis serealia yang memiliki nilai serat pangan tinggi. Menurut penelitian Pratiwi & Sugihita (2020), tepung kecambah proso milet mengandung serat pangan sebanyak 15,26% terdiri dari serat larut sebesar 2,08% dan serat tidak larut sebesar

13,18%. Temuan ini mendukung dugaan bahwa proso milet memiliki potensi sebagai prebiotik. Charalampopoulos *et al.* (2002) juga melaporkan bahwa serealia mengandung serat larut dalam air, oligosakarida, dan pati resisten yang dapat berperan sebagai agen prebiotik.

Pratiwi & Putra (2018) melaporkan bahwa adanya peningkatan total bakteri asam laktat (BAL) selama proses fermentasi proso milet dengan *L. plantarum*. Total BAL meningkat dari $9,35 \times 10^9$ CFU/mL menjadi $3,7 \times 10^{10}$ CFU/mL setelah fermentasi 24 jam. Selain itu, Pratiwi & Putra (2018) melaporkan bahwa dalam proses fermentasi spontan dari kecambah proso milet terjadi pertumbuhan BAL dengan jumlah koloni sebesar $1,1 \times 10^6$ CFU/mL. Temuan ini mendukung dugaan adanya potensi prebiotik dalam tepung milet karena terjadi peningkatan viabilitas BAL selama proses fermentasi. Lei *et al.* (2006) menyatakan bahwa produk fermentasi spontan dari milet dimanfaatkan sebagai probiotik alami untuk mengobati diare pada anak-anak. Namun, bahan serealia seperti milet memiliki kelemahan yaitu adanya senyawa anti nutrisi seperti tanin dan asam fitat.

Kandungan tanin dan asam fitat dalam milet dapat dikurangi melalui proses fermentasi. Pada proses fermentasi, terjadi pelarutan senyawa tanin yang bersifat larut air dan terjadi perombakan tanin menjadi senyawa lainnya akibat adanya mikroba yang terlibat selama proses fermentasi. Rahman & Osman (2005) menyatakan bahwa penurunan kandungan tanin terjadi karena degradasi tanin oleh mikroba selama proses fermentasi atau karena kompleks tanin-protein yang terekstraksi berkurang. Beberapa bakteri diketahui memiliki *tannin acyl hydrolase* atau tannase yang dapat menghidrolisis tanin (Schons *et al.*, 2011). Mekanisme bakteri dalam menghidrolisis tanin melibatkan aktivitas enzim tannase yang dapat menghidrolisis ikatan ester (*galloyl ester* dari alkohol) dan ikatan *desipide* (ester

galloyl dari *gallic acid*) pada substrat seperti *tannic acid*, *epicatechin gallate*, *epigallocatechin gallate*, dan *chlorogenic acid* (Nishitani *et al.*, 2004).

Praproses lainnya yang dapat menurunkan kadar tanin adalah perkecambahan. Proses perkecambahan kacang-kacangan maupun serealia dapat meningkatkan nilai gizi dan mengurangi senyawa antigizi. Hal ini sesuai dengan penelitian Onyango *et al.* (2013) bahwa perkecambahan dapat mengurangi zat antigizi pada sorgum merah, sorgum putih, dan *pearl* milet. Van Hung *et al.* (2012) melaporkan bahwa perkecambahan gandum *waxy* selama 48 jam secara signifikan dapat meningkatkan kandungan serat pangan. Lorri & Svanberg (1993) melaporkan bahwa sebagian besar bakteri asam laktat tidak dapat memfermentasi pati secara langsung sehingga untuk meningkatkan proses fermentasi diperlukan adanya aktivitas amilolitik yang dapat terjadi selama proses perkecambahan.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai variasi praproses pada pengolahan tepung proso milet. Tujuan dari penelitian ini adalah meningkatkan kadar serat pangan dari tepung proso milet dan menganalisis potensi serat pangan tepung proso milet dalam menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik *Lactobacillus rhamnosus* SKG34.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pembuatan tepung proso milet yaitu oven (*Labo DO225*), wadah, pisau, blender

(Maspion), baskom, kompor listrik, ayakan 60 mesh (*Retsch*). Alat untuk analisis kadar air, tanin, serat pangan, viabilitas *L. rhamnosus* SKG34 adalah timbangan analitik (Sartorius), spektrofotometer UV-VIS (*Biochrom Libra*), kertas saring, vortex, *sentrifuge* (Centurion K241R), *laminer air flow*, inkubator (Memert), mikropipet, dan alat gelas (*glassware*).

Bahan utama pada penelitian ini yaitu proso milet (*Panicum miliaceum L.*) atau milet putih dan *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 yang merupakan bakteri probiotik koleksi UPT. Laboratorium Biosains Universitas Udayana. Bahan untuk analisis yaitu akuades, enzim pankreatin (Sigma Cat No. P7545), enzim amiloglukosidase (Sigma Cat No. A7095), etanol 80%, asam tanat (Sigma), reagen Folin-Denis (Merck), Na_2CO_3 (Merck), glukosa, *yeast extract*, pepton, *meat extract*, Na asetat 5 H_2O , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl , *Tween 80 solution*, dan MRS Agar (Merck).

Tahapan Penelitian

Perlakuan Praproses Perkecambahan Milet (Dewi et al., 2018)

Biji proso milet sebanyak 200 g dicuci dengan air sampai bersih kemudian direndam dalam air selama 12 jam. Setelah direndam, ditiriskan, dan proso milet diletakkan pada wadah yang ditutupi kain basah dan dikecambahkan selama 120 jam atau 5 hari. Selama perkecambahan berlangsung, setiap 12 jam proso milet disiram dengan air sebanyak 50 mL secara merata.

Perlakuan Praproses Fermentasi Milet (Kindiki et al., 2015)

Biji proso milet sebanyak 300 g dicuci terlebih dahulu dengan air hingga kotoran dan benda asing hilang. Selanjutnya biji tersebut dimasukkan ke wadah (toples kaca) steril dan ditambah dengan akuades steril (proses perendaman) dengan rasio 3:4 (w/v) dalam keadaan tertutup pada suhu ruang selama 24 jam. Selama perendaman proso milet akan terjadi proses fermentasi spontan.

Perlakuan Praproses Perkecambahan–Fermentasi Milet (Pratiwi & Sugitha, 2020)

Biji proso sebanyak 200 g milet dicuci dengan air hingga bersih, kemudian direndam selama 12 jam. Setelah 12 jam, biji proso milet ditiriskan dan diletakkan pada wadah yang ditutupi kain basah dan dikecambahkan selama 120 jam (5 hari). Selama proses perkecambahan berlangsung, biji proso milet disiram dengan air 50 mL secara merata setiap 12 jam sekali. Biji proso milet yang telah berkecambah kemudian dicuci dan diletakkan pada wadah steril (toples kaca), kemudian diberi akuades steril dengan rasio 1:2 (w/v) dan ditutup (proses perendaman). Perendaman selama 24 jam pada suhu ruang sehingga proses fermentasi spontan berlangsung.

Penepungan Proso Milet Berbagai Perlakuan Praproses

Proso milet perlakuan tanpa praproses (K), dengan proses perkecambahan (P), fermentasi (F), perkecambahan–fermentasi (PF) masing-masing ditepungkan. Proso milet yang sudah diberi perlakuan praproses dan

sudah ditiriskan, kemudian dikeringkan pada suhu 50°C selama 5 jam. Jika sudah kering (kira-kira kadar air 10–14%) kemudian ditepungkan dan disaring menggunakan saringan 80 mesh. Tepung ini akan dianalisis karakteristik kimiawi dan mikrobiologisnya.

Rancangan Percobaan

Pada penelitian ini digunakan rancangan acak kelompok (RAK) satu faktor dengan perlakuan tanpa praproses (K) dan dengan praproses yaitu, perkecambahan (P), fermentasi (F), perkecambahan–fermentasi (PF) proso milet. Setiap metode praproses akan diulang sebanyak empat kali sehingga diperoleh 16 unit percobaan. Data dianalisis dengan ANOVA dan jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's multiple range test* (DMRT) selang kepercayaan 95% menggunakan program SPSS versi 16.0.

Metode Analisis

Kadar Air (AOAC, 1990)

Tepung proso milet ditimbang sebanyak 3–5 g dan dimasukkan dalam botol timbang yang telah dikeringkan dan diketahui bobot konstannya. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 4 jam, selanjutnya didinginkan dan ditimbang, kemudian dikeringkan kembali sampai diperoleh bobot konstan.

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

Kandungan Tanin (AOAC, 1995)

Kandungan tanin ditentukan dengan metode spektrofotometri yaitu membuat kurva standar sebelumnya dengan cara mengambil masing-masing 0–10 mL

larutan asam tanat, kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 100 mL yang berisi 75 mL akuades. Setelah itu, ditambahkan 5 mL reagen Folin-Denis dan 10 mL larutan Na₂CO₃ kemudian ditambahkan akuades hingga tanda tera, kemudian diamkan selama 30 menit dan diukur menggunakan sprektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm. Diperoleh data yang kemudian dibuat kurva standar. Setelah itu, sampel diukur dengan prosedur yang sama dengan menggantikan tanin standar dengan 1 mL sampel.

Analisis Kadar Serat Pangan (AOAC, 1995)

Analisis serat pangan pada tepung proso milet dilakukan dengan metode enzimatis. Tepung yang telah dihilangkan kandungan lemaknya kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan metode enzimatis. Enzim yang digunakan yaitu enzim α-amylase dan enzim pankreatin. Ditimbang tepung proso milet sebanyak 0,2 g (w) kemudian ditambah 4 mL buffer asetat selanjutnya dididihkan dalam penangas air selama 30 menit. Sampel didinginkan dan ditambah 0,1 mL enzim α-amylase dan diinkubasi suhu 100°C selama 15 menit, kemudian ditambahkan 20 mL akuades dan HCl 4 M sehingga mencapai pH 1,5. Selanjutnya ditambahkan pepsin dan inkubasi pada suhu 40°C dan diagitasi 60 menit, kemudian ditambahkan akuades 20 mL dan pH diatur menjadi 6,8. Selanjutnya larutan ditambahkan 100 mg enzim pankreatin dan diinkubasi 40°C selama 60 menit, kemudian pH diatur menjadi 4,5 dengan HCl 4 M. Larutan selanjutnya disaring dan dicuci dua kali dengan akuades. Residu hasil penyaringan

kemudian dicuci dengan 3×2 mL akuades, 2×2 etanol 80% dan 2×2 mL aseton, lalu dikeringkan pada suhu 105°C sampai berat konstan (sekitar 12 jam) dan ditimbang setelah didinginkan dalam desikator (R₁). Selanjutnya diabukan dalam tanur selama 5 jam pada suhu 500°C dan dimasukkan dalam desikator dan ditimbang (A₁)

Serat pangan larut air dianalisis dengan cara filtrat yang didapat dari analisis kadar serat pangan tidak larut air hasil dari penyaringan dengan akuades ditera dengan akuades sampai 10 mL. Filtrat kemudian ditambahkan 40 mL etanol 80%. Kemudian disaring dan dicuci dengan 2×2 mL etanol 80% dan 2×2 mL aseton. Sampel dikeringkan pada suhu pada 105°C selama 24 jam. Kemudian dimasukkan dalam desikator dan ditimbang (F₁). Ekstrak kering selanjutnya diabukan dalam tanur selama 5 jam pada suhu 500°C dan dimasukkan dalam desikator dan ditimbang (A₂).

$$\% \text{ Serat pangan tak larut air} = \frac{\text{Berat residu (R1)} - \text{Berat Abu (A1)}}{\text{Berat sampel awal (w)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Serat pangan larut} = \frac{\text{Berat filtrat (F1)} - \text{Berat Abu (A2)}}{\text{Berat sampel awal (w)}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Serat pangan total} = \% \text{ serat pangan tak larut air} + \% \text{ serat pangan larut}$$

Uji Viabilitas BAL Probiotik (Sri et al., 2012)

Pada uji mikrobiologi, dilakukan pembuatan media *broth*, media MRS, media MRS–glukosa, dan DF+MRS. Media *broth* yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MRS, media MRS bebas glukosa (MRS–glukosa), media MRS bebas glukosa dengan penambahan ekstrak serat pangan tepung milet (DF+MRS–glukosa). Pembuatan media dasar MRS mengacu pada Sawatari et al. (2006). *Lactobacillus rhamnosus*

SKG34 ditumbuhkan pada ketiga jenis media berbeda. Hal ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi serat pangan dari milet dalam meningkatkan pertumbuhan *L. rhamnosus* SKG34. Media MRS dibuat dengan mencampur glukosa 1%, *yeast extract* 1%, pepton 0,5%, *meat extract* 0,2%, Na asetat5H₂O 0,2%, *salt solution* (MgSO₄.7H₂O,MnSO₄.4H₂O,FeSO₄.7H₂O, NaCl), dan *tween 80 solution* 1%. Campuran ini kemudian diencerkan dengan akuades steril sehingga volumenya mencapai 100 mL. Setelah itu dilakukan dilakukan pengujian pH media untuk memastikan pH nya mencapai 6,8. Media MRS–glukosa dibuat dengan komposisi yang sama dengan media dasar MRS akan tetapi tanpa penambahan glukosa. Setelah itu dilakukan pengujian pH media untuk memastikan pH-nya mencapai 6,8. Media DF+MRS dibuat dengan menambahkan ekstrak serat pangan tepung proso milet sebanyak 2,5% ke dalam 100 mL larutan media MRS–glukosa. Setelah itu dilakukan dilakukan pengujian pH media untuk memastikan pH nya mencapai 6,8.

Pada pengujian potensi prebiotik, tepung proso milet perlakuan kontrol (K), perkecambahan (P), fermentasi (F), perkecambahan–fermentasi (PF) diujikan sebagai potensinya dalam menstimulasi pertumbuhan BAL. 9 mL media broth MRS–glukosa disiapkan kemudian ditambahkan 2,5% ekstrak serat pangan tepung proso milet dari masing-masing perlakuan praproses (K, P, F, dan PF) dan kemudian disterilkan. Proses ekstraksi serat pangan dilakukan dengan cara hasil hidrolisis dengan enzim amilolitik dan proteolitik selanjutnya diendapkan dengan etanol 95% (1:4 v/v), dan disaring menggunakan kertas whatman 41,

kemudian dicuci dengan etanol 95% dan aseton. Selanjutnya dikeringkan pada suhu 105°C selama 4 jam, ekstrak serat pangan proso milet berupa serbuk kering serat pangan tidak larut.

Selanjutnya sebanyak 2,5 mL kultur mikroba uji *L. rhamnosus* SKG34 yang telah diinokulasi selama 24 jam dengan nilai *optical density* (OD) 2,103 dan berisi 10^7 CFU/mL dipipet dan ditumbuhkan ke dalam berbagai jenis media *broth* (sesuai perlakuan). Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi 24 jam, 1 mL larutan dari masing-masing media broth dipipet dan dimasukkan ke dalam 9 mL *saline water* untuk diencerkan dari 10^{-1} sampai 10^{-6} . Selanjutnya sebanyak 1 mL dienumerasi pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} pada media MRSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Perhitungan total koloni *L. rhamnosus* SKG34 dilakukan setelah 48 jam dalam CFU/mL dan ditampilkan dalam tabel dengan satuan \log_{10} CFU/mL.

Total koloni (CFU/mL)

$$= \frac{\text{Jumlah koloni} \times 1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air Tepung Proso Milet Perlakuan Praproses

Pengolahan tepung proso milet dengan menggunakan variasi metode praproses (fermentasi, perkecambahan, dan perkecambahan-fermentasi) dan tanpa pra-proses memberikan pengaruh secara signifikan terhadap kadar air tepung milet ($P<0,05$). Tepung proso milet perlakuan praproses fermentasi (F) memiliki nilai kadar air tertinggi yaitu sebesar 11,97%

sedangkan tepung proso milet kontrol (K) memiliki nilai kadar air terendah yaitu 8,05% (**Tabel 1**).

Tabel 1. Kadar air tepung proso milet dengan perlakuan praproses

Perlakuan praproses	Kadar air (%)
K (kontrol)	8,05±0,51 ^b
F (fermentasi)	11,97±0,54 ^a
P (perkecambahan)	8,17±0,07 ^c
PF (perkecambahan-fermentasi)	8,45±0,12 ^c

Keterangan:

- Data ditampilkan sebagai nilai rata-rata dari 4 ulangan ± standar deviasi
- *Superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha<0,05$)

Kadar air bahan dipengaruhi oleh kondisi bahan saat dikeringkan. Bahan baku tepung proso milet hasil fermentasi dengan waktu dan suhu pengeringan yang sama memiliki kandungan air yang lebih tinggi karena lebih basah. Selain itu, perlakuan perkecambahan mampu menurunkan kadar air karena akibat proses perkecambahan menyebabkan biji milet membengkak mengakibatkan struktur di dalam biji lebih renggang sehingga ketika dikeringkan, air yang terdapat di dalam kacang lebih mudah keluar. Hal tersebut menyebabkan kadar air milet yang dikecambahkan lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak dikecambahkan. Saputro *et al.* (2015) melaporkan bahwa kadar air tepung kecambah lebih rendah dibanding dengan tepung kacang yang belum dikecambahkan. Hal ini dikarenakan proses perendaman biji menyebabkan air masuk ke dalam biji dan menyebabkan biji menjadi membengkak.

Kadar Tanin Tepung Proso Milet dengan Perlakuan Praproses

Pengolahan tepung proso milet dengan menggunakan variasi metode praproses (fermentasi, perkecambahan, dan perkecambahan-fermentasi) memberikan pengaruh secara signifikan terhadap kadar tanin tepung milet ($P<0,05$). Tepung milet kontrol (K) memiliki nilai kadar tanin tertinggi yaitu sebesar 2,68% dan tepung milet fermentasi (F) memiliki nilai kadar tanin terendah yaitu 0,08% (**Tabel 2**).

Tabel 2. Kadar tanin tepung proso milet dengan perlakuan praproses

Perlakuan praproses	Kadar tanin (%)
K (kontrol)	2,68±0,18 ^a
F (fermentasi)	0,08±0,01 ^c
P (perkecambahan)	0,16±0,02 ^b
PF (perkecambahan-fermentasi)	0,26±0,03 ^b

Keterangan:

- Data ditampilkan sebagai nilai rata-rata dari 4 ulangan \pm standar deviasi
- *Superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha<0,05$)

Penurunan kadar tanin selama proses fermentasi diduga karena adanya aktivitas bakteri selama proses fermentasi. Menurut Schons *et al.* (2011) beberapa bakteri

diketahui memiliki *tannin acyl hydrolase* atau tannase yang dapat menghidrolisis tanin. Mekanisme bakteri dalam menghidrolisis tanin melalui aktivitas enzim *tannase* yang dapat menghidrolisis ikatan ester (*galloyl ester* dari alkohol) dan *desipide bond* (*ester galloyl* dari *gallic acid*) pada substrat seperti *tannic acid*, *epicatechin gallate*, *epigallocatechin gallate* dan *chlorogenic acid* (Nishitani *et al.*, 2004).

Kadar tanin juga mengalami penurunan setelah proses perkecambahan karena terjadinya pembentukan asosiasi hidrofobik tanin dengan protein biji dan enzim. Selain itu, hilangnya tanin selama fermentasi dan perkecambahan juga dapat disebabkan oleh pencucian tanin ke dalam air (Shimelis & Rakshit, 2007) dan pengikatan polifenol dengan zat organik lain seperti karbohidrat atau protein. Selain itu, selama periode perendaman sebelum perkecambahan, enzim polifenol oksidase dapat diaktifkan, mengakibatkan terjadinya degradasi dan hilangnya polifenol (Khandelwal *et al.*, 2010).

Kadar Serat Pangan Tepung Proso Milet dengan Perlakuan Praproses

Pengolahan tepung milet dengan menggunakan variasi metode praproses

Tabel 3. Kadar serat pangan, serat pangan larut, dan serat pangan tidak larut tepung proso milet dengan perlakuan praproses

Perlakuan praproses	Kadar serat pangan total (% bk)	Kadar serat pangan larut (% bk)	Kadar serat pangan tidak larut (% bk)
K (kontrol)	12,72 ± 1,25 ^c	1,56 ± 0,32 ^b	11,67±2,10 ^c
F (fermentasi)	22,38 ± 3,39 ^a	2,06 ± 0,21 ^a	20,31±3,20 ^a
P (perkecambahan)	18,75 ± 1,24 ^b	1,41 ± 0,24 ^b	17,33±1,02 ^b
PF (perkecambahan-fermentasi)	19,02 ± 0,38 ^b	1,35 ± 0,06 ^b	17,67±0,33 ^b

Keterangan:

- Data ditampilkan sebagai nilai rerata dari 4 ulangan \pm standar deviasi
- *Superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha<0,05$)
- K = Kontrol; F = Fermentasi; P = Perkecambahan; PF = Perkecambahan dilanjutkan dengan fermentasi

(fermentasi, perkecambahan, dan perkecambahan-fermentasi) memberikan pengaruh secara signifikan terhadap kadar serat pangan tepung milet ($P<0,05$). Praproses dalam pengolahan tepung milet secara signifikan mampu meningkatkan kadar serat pangan total, serat pangan larut, dan serat pangan tidak larut dari tepung milet. Kadar serat pangan total tepung proso milet dengan praproses fermentasi (F) tertinggi yaitu 22,38%. Nilai serat pangan total tepung milet dengan praproses perkecambahan (P) dan perkecambahan-fermentasi (PF) tidak berbeda nyata ($P<0,05$). Kadar serat pangan larut air tertinggi dari tepung proso milet praproses fermentasi (F) yaitu 2,06% dan berbeda nyata dibandingkan perlakuan lainnya. Kadar serat pangan tidak larut air tertinggi pada perlakuan praproses fermentasi yaitu sebesar 20,31% (**Tabel 3**). Perlakuan pra-proses fermentasi (F) mampu meningkatkan kadar serat pangan total, serat pangan larut, dan serat pangan tidak larut dari tepung proso milet yang dihasilkan. Perlakuan kontrol (tanpa praproses) memiliki kadar serat pangan total, serat pangan larut, dan serat pangan tidak larut terendah dibandingkan perlakuan lainnya.

Nilai serat pangan milet menjadi hal penting terutama dikarenakan milet tidak dapat dikonsumsi tanpa praproses. Tingginya senyawa anti nutrisi dan tanin dari milet mengakibatkan milet memerlukan praproses seperti fermentasi dan perkecambahan di awal proses pengolahannya. Perkecambahan merupakan teknik sederhana untuk meningkatkan kualitas biji milet (Pushparaj & Urooj, 2011). Selama perkecambahan, aktivitas enzim hidrolitik

dapat membantu memecah sebagian komponen selulosa dan hemiselulosa sehingga menghasilkan peningkatan serat pangan yang terlarut dan tidak terlarut.

Martín-Cabrejas *et al.* (2004) melaporkan perlakuan fermentasi alami dengan autoklaf mampu meningkatkan kadar serat pangan dari tepung kacang buncis (*Phaseolus vulgaris L.*). Pratiwi *et al.* (2012) melaporkan bahwa kadar serat pangan tidak larut air dari tepung pisang yang diperlakukan fermentasi cenderung mengalami peningkatan dibandingkan tepung pisang tanpa fermentasi. Hal ini diduga karena dalam proses fermentasi terdapat bakteri amilolitik indigenous yang dapat mendegradasi pati sehingga meningkatkan kadar komponen bahan pangan non-pati seperti serat pangan. Proses perkecambahan milet yang dilanjutkan fermentasi 24 jam secara signifikan meningkatkan kadar serat dari tepung pearl milet (Kindiki *et al.*, 2015).

Viabilitas *Lactobacillus rhamnosus* SKG34

Viabilitas *L. rhamnosus* SKG34 ditentukan dengan membandingkan nilai *optical density* (OD) dan total BAL. *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 ditumbuhkan pada media dasar dengan komposisi substrat yang berbeda yaitu media MRS, MRS tanpa glukosa, dan MRS tanpa glukosa dengan penambahan ekstrak serat pangan dari tepung proso milet.

Nilai OD dari *L. rhamnosus* SKG34 tertinggi pada media *broth* dengan glukosa (GYPB) yaitu sebesar 2,31 (**Tabel 4**). Hal ini dikarenakan *L. rhamnosus* SKG34 merupakan strain BAL yang mampu memanfaatkan glukosa dalam

pertumbuhannya. Nilai OD *L. rhamnosus* SKG34 dengan penambahan ekstrak serat pangan dari metode praproses perkecambahan memiliki nilai OD tertinggi dibandingkan dengan perlakuan penambahan serat pangan lainnya. Hal ini diduga proses perkecambahan mampu meningkatkan aktivitas enzim β -amilase yang dapat menghidrolisis dinding sel karbohidrat selama perkecambahan (Iswarya & Narayanan, 2016). Terjadi peningkatan kadar amilosa milet setelah proses perkecambahan yang akan berpengaruh terhadap kandungan pati resisten (Li *et al.*, 2017) sehingga dapat meningkatkan potensinya sebagai prebiotik (Wulan *et al.*, 2006).

Tabel 4. Nilai *optical density* *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 yang ditumbuhkan pada media *broth* yang berbeda

Perlakuan	<i>Optical density</i>
MRS	2,31 ± 0,009
MRS-glukosa	0,601 ± 0,023
F+MRS-glukosa	0,584 ± 0,01
P+MRS-glukosa	0,645 ± 0,02
PF+MRS-glukosa	0,468 ± 0,006

Keterangan:

- Data ditampilkan sebagai nilai rata-rata dari 4 ulangan ± standar deviasi
- MRS = media dasar MRS *broth*
- MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa
- F+MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa + ekstrak serat pangan dari tepung proso milet praproses fermentasi
- P+MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa + ekstrak serat pangan dari metode praproses perkecambahan
- PF+MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa + ekstrak serat pangan dari tepung proso milet praproses perkecambahan dan fermentasi

Total BAL menunjukkan kemampuan *L. rhamnosus* SKG34 untuk tumbuh dan berkembang dalam media

perlakuan. Total BAL media MRS-glukosa, P+MRS-glukosa, F+MRS-glukosa berada pada kisaran 5 log₁₀ CFU/mL, sedangkan total BAL pada media MRS *broth* sebesar 8,61 log₁₀ CFU/mL (**Tabel 5**).

Tabel 5. Total BAL dari media *broth* yang berbeda

Perlakuan	Total BAL (log ₁₀ CFU/mL)
MRS	8,61
MRS-glukosa	5,57
F+MRS-glukosa	5,45
P+MRS-glukosa	5,73
PF+MRS-glukosa	4,28

Keterangan:

- MRS = media dasar MRS *broth*
- MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa
- F+MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa + ekstrak serat pangan dari tepung proso milet praproses fermentasi
- P+MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa + ekstrak serat pangan dari tepung proso milet praproses perkecambahan
- PF+MRS-glukosa = media *broth* MRS tanpa glukosa + ekstrak serat pangan dari tepung proso milet praproses perkecambahan dan fermentasi

Peningkatan total BAL pada media MRS dikarenakan MRS merupakan media yang umum untuk pertumbuhan *Lactobacillus* sehingga sesuai bagi pertumbuhan *Lactobacillus rhamnosus* SKG34. Hal ini sejalan dengan penelitian Purnamasari *et al.* (2019) bahwa terjadi peningkatan yang signifikan pertumbuhan BAL probiotik pada media m-MRSB (media dasar MRS *broth*) dibandingkan dengan media lain karena m-MRSB mengandung sumber karbon, nitrogen, dan mineral.

Ekstrak serat pangan yang berasal dari metode praproses yang berbeda, yaitu fermentasi, perkecambahan, dan perkecambahan-fermentasi tidak

mengalami peningkatan total BAL. *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 dapat tumbuh pada media MRS-glukosa, P+MRS-glukosa, F+ MRS-glukosa tetapi pertumbuhannya tidak seoptimal jika pada media dasar MRS broth. Hal ini dikarenakan bakteri probiotik memanfaatkan ketersediaan sumber karbon pada sampel untuk kelangsungan hidupnya. Purnamasari *et al.* (2019) melaporkan bahwa bakteri probiotik memanfaatkan sumber karbon dalam bentuk oligosakarida berupa pati resisten dibandingkan dengan polisakarida dari pati resisten dan serat sehingga mengakibatkan penambahan ekstrak serat pada media MRS-glukosa tidak mampu menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik.

KESIMPULAN

Pengolahan millet dengan metode praproses fermentasi (F) menghasilkan tepung millet dengan kadar serat pangan tertinggi. Tepung millet dengan metode praproses fermentasi memiliki kadar serat pangan total 22,38%; serat pangan larut 2,06%; dan serat pangan tidak larut 20,31%; kadar tanin 0,08%; dan kadar air 11,97%. Serat pangan tepung proso millet terpraproses perkecambahan (P), fermentasi (F), maupun perkecambahan-fermentasi (PF) tidak mampu menstimulasi pertumbuhan probiotik *L. rhamnosus* SKG34. Dengan demikian disarankan untuk mengkaji potensi dari pati resisten proso millet dalam menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada LPPM dan Fakultas Teknologi

Pertanian Universitas Udayana atas pendanaan Penelitian Unggulan Program Studi Tahun 2020 Nomor Perjanjian Kerja: B/928.2/UN14.2.12.II/PT.01.05/2020.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemist 18th Edition. Arlington, VA, USA.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S., & Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1–2), 131–141.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.1395>
- Dewi, I.G.A.A.S.P., Ekawati, I.G.A., & Pratiwi, I.D.P.K. (2018). Pengaruh lama perkecambahan millet (*Panicum milliaceum*) terhadap karakteristik flakes. *Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(4), 175–183.
<https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p04>.
- Iswarya, A.L., & Narayanan, A. (2016). Effect of germination on biofortified pearl millet cultivars' nutrient content. *International Journal of Innovation and Research in Educational Sciences*, 3(6), 391–396.
- Khandelwal, S., Udupi, S.A., & Ghugre, P. (2010). Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. *Food Research International*, 43(2), 526–530
DOI: 10.1016/j.foodres.2009.09.036
- Kindiki, M.M., Onyango, A., & Kyalo, F. (2015). Effects of processing on nutritional and sensory quality of pearl millet flour. *Food Science and Quality Management*, 42(1), 13–19.

- Lei, V., Friis, H., & Michaelsen, K.F. (2006). Spontaneously fermented millet product as a natural probiotic treatment for diarrhoea in young children: An intervention study in Northern Ghana. *International Journal of Food Microbiology*, 110(3), 246–253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.022
- Li, C., Oh, S.-G., Lee, D.-H., Baik, H.-W., & Chung, H.-J. (2017). Effect of germination on the structures and physicochemical properties of starches from brown rice, oat, sorghum, and millet. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 931–939. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.07.123
- Lorri, W., & Svanberg, U. (1993). Lactic acid-fermented cereal gruels: Viscosity and flour concentration. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 44, 207–213. <https://doi.org/10.3109/09637489309017441>
- Martín-Cabrejas, M.A., Sanfiz, B., Vidal, A., Mollá, E., Esteban, R., & López-Andréu, F.J. (2004). Effect of fermentation and autoclaving on dietary fiber fractions and antinutritional factors of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2), 261–266. DOI: 10.1021/jf034980t.
- Nishitani, Y., Sasaki, E., Fujisawa, T., & Osawa, R. (2004). Genotypic analyses of *Lactobacilli* with a range of tannase activities isolated from human feces and fermented foods. *System. Appl. Microbiol.*, 27(1), 109–117. DOI: 10.1078/0723-2020-00262
- Onyango, C.A., Ochanda, S.O., Mwasaru, M. A., Ochieng, J.K., Mathooko, F.M., & Kinyuru, J.N. (2013). Effects of malting and fermentation on anti-nutrient reduction and protein digestibility of red sorghum, white sorghum and pearl millet. *Journal of Food Research*, 2(1), 41. DOI: 10.5539/jfr.v2n1p41
- Pushparaj, F.S., & Rrooj, A. (2011). Influence of processing on dietary fiber, tannin and in vitro protein digestibility of pearl millet. *Food and Nutrition Sciences*, 2 (8), 895–900. DOI: 10.4236/fns.2011.28122
- Pratiwi, N.Y., Nurhayati, & Nafi, A. (2012). Evaluasi sifat prebiotik serat pangan tidak larut air (STLA) terekstrak dari tepung buah pisang agung dan pisang mas. *Jurnal Agroteknologi*, 6(1), 29–39.
- Pratiwi, I.D.P.K., & Putra, I.N.K. (2018). “Optimasi Proses Fermentasi Pada Pengolahan Proso Milet (*Paniceum miliaceum* L.) dan Pengaruhnya Terhadap Kualitas Tepung yang Dihasilkan”. Laporan Akhir Penelitian. Universitas Udayana, Bali.
- Pratiwi, I.D.K., & Sugitha, I.M. (2020). kandungan tanin dan serat pangan dari tepung kecambah milet dan tepung kecambah milet terfermentasi. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*, 5(1), 34–38. DOI: <https://doi.org/10.24843/JITPA.2020.v05.i01.p06>
- Purnamasari, N., Nur Faridah, D., & Sri Laksmi Jenie, B. (2019). Karakteristik sifat prebiotik tepung daluga hasil modifikasi heat moisture treatment. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 30(1), 36–45. <https://doi.org/10.6066/jtip.2019.30.1.36>
- Rahman, I.E.A., & Osman, M.A.W. (2005). Effect of sorghum type (*Sorghum bicolor*) and traditional fermentation on tannins and phytic acid contents and trypsin inhibitor activity. *Agriculture & Environment*, 9(3), 63–166.

- Saputro, D.H., Andriani, M., & Siswanti. (2015). Karakteristik sifat fisik dan kimia formulasi tepung kecambah kacang-kacangan sebagai bahan minuman fungsional. *Jurnal Teknoscains Pangan*, 4(1), 10–19.
- Sawatari, Y., Hirano, T., & Yokota, A. (2006). Development of food grade media for the preparation of *Lactobacillus plantarum* starter culture. *Journal of General and Applied Microbiology*, 52(6), 349–356. <https://doi.org/10.2323/jgam.52.349>
- Schons, P.F., Ries, E.F., Battestin, V., & Macedo, G.A. (2011). Effect of enzymatic treatment on tannins and phytate in sorghum (*Sorghum bicolor*) and its nutritional study in rats. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(6), 1253–1258. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02620.x>
- Shimelis, E.A., & Rakshit, S.K. (2007). Effect of processing on antinutrients and in vitro protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties grown in East Africa. *Food Chemistry*, 103(1), 161–172.
- Sri, B., Jenie, L., Putra, R.P., & Kusnandar, F. (2012). Fermentasi kultur campuran bakteri asam laktat dan pemanasan autoklaf dalam meningkatkan kadar pati resisten dan sifat fungsional tepung pisang tanduk (*Musa paradisiaca* formatypica). *Jurnal Pascapanen*, 9(1), 18–26.
- Van Hung, P., Maeda, T., Yamamoto, S., & Morita, N. (2012). Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(3), 667–672. DOI: 10.1002/jsfa.4628.
- Wulan, S.N., Sapariani, E., Widjanarko, S.B., & Kurnaeni, N. (2006). Modifikasi pati sederhana dengan metode fisik, kimia, dan kombinasi fisik-kimia untuk menghasilkan tepung pra-masak tinggi pati resisten yang dibuat dari jagung, kentang, dan ubi kayu. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 7(1), 1–9.