

SCREENING BAKTERI *Lactobacillus plantarum* DALAM PENYIAPAN STARTER POWDER UNTUK FERMENTASI HANCURAN KASAVA

Zulafa noor

Sekolah Tinggi Teknologi Nasional Yogyakarta
Zulafa.noor@yahoo.com

ABSTRAK

Sampai saat ini belum ada sediaan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang dapat digunakan secara langsung oleh industri pengolahan kasava. Selama ini belum pernah dilakukan fermentasi hancuran kasava dengan BAL kultur tunggal dengan bentuk *powder*. Agar aplikasi BAL pada fermentasi hancuran kasava mudah dilakukan, perlu starter dalam bentuk *powder*. Oleh karena itu, perlu *screening* BAL untuk penyiapan starter *powder*.

Penelitian *screening* bakteri asam laktat ini dilakukan untuk memperoleh informasi ilmiah tentang teknologi proses penyiapan starter *powder Lactobacillus plantarum* untuk mendapatkan starter dengan viabilitas tinggi untuk aplikasi industri pengolahan kasava.

Tujuan jangka panjang hasil penelitian ini, dapat diimplementasikan lebih luas pada industri pangan, terutama untuk industri tepung kasava yang sudah ada, sehingga menjadi alternatif bahan baku pangan lokal untuk mengurangi ketergantungan pada bahan impor terigu sehingga dapat meningkatkan ketahanan pangan nasional. Target khusus yang ingin dicapai adalah memperoleh cara penyiapan starter *powder L.plantarum* dengan viabilitas tinggi dengan kualitas terbaik untuk fermentasi hancuran kasava guna meningkatkan *baking expansion* tepung kasava; dengan memilih strain *L.plantarum* terbaik berdasarkan laju pertumbuhan dan kadar sel, pada saat memasuki fase stationer.

Adapun metode yang akan dipakai dalam pencapaian tujuan tersebut adalah dengan cara mensosialisasikan hasil penelitian ini kepada masyarakat pada umumnya, dan secara khusus mengaplikasikan pada para produsen tepung kasava.

Penelitian ini menggunakan enam macam strain *Lactobacillus plantarum* dari isolat lokal yang diperoleh dari proses pembuatan growol makanan tradisional dari kasava, yang berasal dari Kabupaten Kulon Progo. Yang selanjutnya dilakukan pemurnian di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU UGM Yogyakarta. Adapun enam macam isolat tersebut adalah T3, T13, T32, UA3, AA2, dan AA11.

Hasil penelitian secara berturut-turut menunjukkan bahwa kisaran fase log untuk semua isolat tercapai pada jam ke 8 – 20. Kisaran fase stationer tercapai pada jam ke 9 – 21. Sedangkan kisaran jumlah sel (log cfu/ml) adalah 8,81 – 9,74. Adapun untuk nilai pH selama masa pertumbuhan sel menunjukkan trend yang hampir sama yaitu pada jam ke nol nilai pH semua isolat berada pada kisaran 5,15 – 5,8 , dan pada jam ke 24 nilai pH berkisar antara 3,4 – 3,65. Analisis kadar asam laktat dari bakteri *L.plantarum* selama pertumbuhan berkisar antara 0,76 – 0,98%. Adapun kisaran waktu pencapaian kadar asam laktat tertinggi pada jam ke 14 -24. Dari analisis SEM (Scanning Electron Microscopy) dapat diketahui bahwa kisaran ukuran sel *L.plantarum* 1,227 – 1,890 μm .

Dari semua hasil penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa isolat terbaik dan terpilih adalah isolat *L.plantarum* UA3 dengan spesifikasi sebagai berikut: fase log 8 jam, fase stationer 9 jam, jumlah sel 9,74 log cfu/ml, perubahan pH 5,5 – 3,4 , kadar asam laktat 0,92% tercapai pada jam ke 14, ukuran sel 1,754 μm .

Kata kunci: bakteri asam laktat, jumlah sel, viabilitas sel.

I. Pendahuluan

Sampai saat ini belum ada sediaan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang dapat digunakan secara langsung oleh industri pengolahan kasava. Agar aplikasi BAL pada fermentasi Hancuran Kasava (HK) lebih mudah dilakukan, perlu starter BAL dalam bentuk *powder*. Fermentasi kasava sebenarnya bisa berjalan spontan tetapi pertumbuhan mikrobia nya tidak terkontrol sehingga menghasilkan produk yang kualitasnya tidak seragam.

Oleh karena itu perlu dibuat starter *powder* dengan kulltur tunggal agar lebih bisa dikendalikan, mempunyai performa yang optimum, bisa diproduksi kembali, resisten terhadap phage, jika dibandingkan dengan kultur campuran (Gilliland, 1985; dan Carminati et al., 2010). Dalam pembuatan starter *powder* diperlukan *carrier* yang sesuai. Oleh karena itu, akan dipilih dari beberapa macam *carrier*. Dalam pembuatan starter *powder* *Lactobacillus plantarum*, akan dipilih beberapa macam strain dari isolat lokal yang mempunyai kemampuan pengembangan pada *baking expansion* tepung kasava. Antara lain adalah: *L.plantarum* Subs. AA2, AA11, dan UA3.

Siklus pertumbuhan mikrobia pada *culture batch* terbagi menjadi 4 fase, dimana perbedaan umur sel setiap fase pada starter ini akan mempengaruhi ketahanan sel. Faktor suhu, baik pada proses pengeringan maupun proses penyimpanan akan mempengaruhi ketahanan sel dan viabilitas sel.

Produksi kasava (singkong) di Indonesia sangat melimpah, pada tahun 2011 produksi kasava mencapai 24 juta ton, 80% dari produksi tersebut dihasilkan di Pulau Jawa dan Sumatera (www.deptan.go.id, 2012).

Di sisi lain, ketergantungan impor terigu sebagai bahan dasar pembuatan roti mendorong usaha untuk mensubstitusi terigu dengan bahan lokal. Ini merupakan tindakan cerdas yang tepat. Beberapa usaha

telah dilakukan dengan produksi tepung kasava (1989), tepung thiwul instan (2002), dan akhir-akhir ini MOCAF (*Modified Cassava Flour*) (Yuli Witono, 2008). Namun tepung kasava dan tepung thiwul tersebut kurang dapat diterima pasar. Karena sifatnya tidak bisa mengembang pada *baking* (pemanggangan) sehingga mengakibatkan kurang berpotensi untuk menggantikan terigu dalam pembuatan roti.

Oleh karena itu diperlukan metode modifikasi fermentasi dengan bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan tepung kasava dengan karakteristik fisik dan kimia yang lebih baik. Fermentasi asam laktat secara tradisional terjadi selama tahap pengendapan pati selama kurang lebih 30 hari (Sobowale et al., 2007). Disamping itu asam laktat dapat memperbaiki aroma dan *flavor* (Bertolini et al., 2001).

Agar aplikasi bakteri asam laktat pada fermentasi hancuran kasava lebih mudah dilakukan, maka perlu tersedianya starter bakteri asam laktat *powder* siap pakai sebagai ragi. Ragi dapat didefinisikan sebagai sediaan kultur mikrobia yang ditambahkan pada bahan baku dalam proses fermentasi produk pangan. Bakteri asam laktat banyak digunakan dalam proses ini karena mudah diaplikasikan dan menghasilkan produk fermentasi yang aman dikonsumsi (Leroy et al., 2004).

Fermentasi kasava sebenarnya dapat berjalan secara spontan (tanpa penambahan mikrobia/starter, tetapi pertumbuhan mikroorganisme tidak terkontrol sehingga menghasilkan produk yang kualitasnya tidak seragam. Kegagalan proses fermentasi spontan diakibatkan oleh bakteri pembusuk dan atau *bacteri pathogen* yang bertahan sehingga menghasilkan resiko kesehatan yang tidak diharapkan. Untuk mengatasi hal tersebut maka penambahan kultur starter akan mempercepat proses asidifikasi produk dan kemudian menghambat pertumbuhan bakteri perusak dan pathogen, dan produk memiliki kualitas yang

konsisten (Huch *et al.*, 2008). Ragi yang diperlukan untuk fermentasi hancuran kasava yang akan dipakai dalam penelitian ini belum tersedia.

Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan *screening* bakteri *L.plantarum* untuk kepentingan penyiapan starter *powder* kultur tunggal dari isolat lokal, untuk fermentasi hancuran kasava. Kultur tunggal akan menghasilkan produk yang lebih baik, dan akan dipelajari viabilitas isolat murni bakteri asam laktat yang mempunyai viabilitas yang tinggi.

Starter merupakan sediaan mikroorganisme yang digunakan untuk mempercepat proses fermentasi. Berdasarkan bentuknya starter dibedakan atas starter cair dan starter kering atau *powder*. Starter *powder* biasanya disebut dengan ragi yang digunakan sebagai inokulum untuk produk fermentasi (Campbell-Platt,1987).

Geisen *et al.* (1996) menyatakan bahwa starter mampu mempersingkat waktu fermentasi, meningkatkan keamanan produk yang dihasilkan. Starter dapat menghasilkan aroma dan tekstur yang baik serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan.

Beberapa hal yang mempengaruhi proses pembuatan starter (Gililand, 1985) adalah: media pertumbuhan bakteri, umur sel pada starter, kondisi pertumbuhan, dan macam bahan pembawa.

Dalam penyiapan starter *powder L. Plantarum*, faktor yang berpengaruh antara lain adalah suhu, pH, air, dan oksigen. Faktor ini akan berpengaruh terhadap viabilitas, pertumbuhan dan reproduksi sel (Yousef, A.E. dan Carolyn, 2003).

Siklus pertumbuhan mikrobial pada culture batch, terbagi menjadi 4 fase yaitu: fase lag, fase eksponensial/logaritmik, fase stasioner, dan fase kematian.

Perbedaan fase pertumbuhan akan mempengaruhi ketahanan sel (Yousef, 2003). Kelangsungan hidup starter selama pengeringan dan penyimpanan tergantung pada beberapa faktor yaitu konsentrasi awal, kondisi pertumbuhan, media

pertumbuhan, media pengeringan, dan kondisi rehidrasi (Carlvalho *et.al.*, 2004).

Bakteri asam laktat (BAL) terutama *Lactobacillus*, telah diketahui memiliki peran penting pada fermentasi pati kasava asam. Aktivitas BAL pada fermentasi tersebut berperan terhadap perubahan karakteristik produk karena adanya produksi asam laktat, enzim spesifik, dan senyawa aromatik (Camargo *et al.*,1988; Demiate *et al.*,2000; Marcon *et al.*,2006). Asam laktat yang dihasilkan juga menyebabkan perubahan mikrostruktur patinya (Bertolini *et al.*,2000; Plata-Oviedo and Camargo,1998). Fermentasi dengan BAL juga akan meningkatkan keamanan konsumsi kasava karena dapat menurunkan kandungan senyawa beracun sianogenik (Bradbury,1999; Cardoso *et al.*, 2005; Lei *et al.*,1999).

Fermentasi asam laktat secara tradisional terjadi selama tahap pengendapan pati selama kurang lebih 30 hari (Sobowale *et al.*, 2007). Disamping itu asam laktat dapat memperbaiki aroma dan *flavor* (Bertolini *et al.*, 2001).

Di Indonesia, salah satu makanan tradisional khas dari fermentasi kasava adalah growol. Uji mikrobiologis pada growol menunjukkan, bahwa BAL yang tumbuh adalah jenis *Lactobacillus* yang bersifat homofermentatif (Muttarokah, 1998), sedangkan Ngatirah (2000) dan Titik (2009) mengidentifikasi beberapa isolat dari growol. Perbedaan bahan baku, metode fermentasi, kondisi proses dan lingkungan sangat mempengaruhi jenis-jenis BAL yang tumbuh sekaligus kemampuannya dalam produksi asam laktat serta mendegradasi senyawa glikosida sianogenik. Menurut Widya, DRP., (2011), fermentasi pati kasava menggunakan bakteri asam laktat isolat lokal *Lactobacillus plantarum* subs *plantarum* AA2, AA11, dan UA3 dapat meningkatkan kemampuan pengembangan patinya saat pemanggangan, sehingga isolat ini dapat digunakan sebagai kultur starter dalam fermentasi kasava.

Penggunaan dua strain *Lactobacillus* yaitu *Lactobacillus plantarum* BFE 6710

dan *Lactobacillus fermentum* BFE 6620 dalam fermentasi kasava untuk memproduksi *Gari* menunjukkan hasil bahwa *Lactobacillus plantarum* BFE 6710 menjadi organisme yang dominan dalam fermentasi (Huch *et al*, 2008). Dengan demikian *L.plantarum* mempunyai potensi untuk digunakan dalam fermentasi kasava. Sedangkan menurut Zulafa,N.,(2011), penggunaan isolat *L.plantarum* NBRC Jepang menunjukkan viabilitas yang lebih rendah dari isolat lokal.

Kebaruan pada penelitian yang dilakukan ini adalah menggunakan

2.METODE PENELITIAN

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah:

Kultur BAL *Lactobacillus plantarum* dengan isolat *L.plantarum* lokal dengan 6 (enam) macam strain,yang diperoleh dari Food and Nutrition Culture Colection, Pusat Studi Pangan dan Gizi, Pusat Antar Universitas, Universitas Gadjah Mada,Yogyakarta.

6 (enam) macam *strain* yang dipakai adalah : *L.plantarum* T3, *L.plantarum* T13 ,*L.plantarum* T32, *L.plantarum* UA3, *L.plantarum* AA2, dan *L.plantarum* AA11.

Media untuk pertumbuhan BAL adalah MRSA, MRSB, aquades, dan bubuk agar PA. Bahan kimia antara lain CaCO₃, NaCl,NaOH, alkohol, dan spiritus.

2.1. Metode Pengumpulan data

Penelitian dilakukan dengan observasi di laboratorium Bioteknologi FTP UGM dan laboratorium Mikrobiologi Pangan PAU UGM, untuk mempelajari karakteristik BAL dan ukuran sel dianalisis dengan Scanning Electron Microscopy (SEM) di laboratorium Sentral Terpadu di Universitas Negeri Malang.

2.2. Metode Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan resusitasi bakteri *L.plantarum* masing-

teknologi dalam penyiapan starter *powder* yaitu dengan melakukan *screening* pada 6 macam isolat lokal dari BAL.Kemudian akan diperoleh BAL dengan isolat tertentu yang merupakan kultur tunggal dengan viabilitas tinggi.

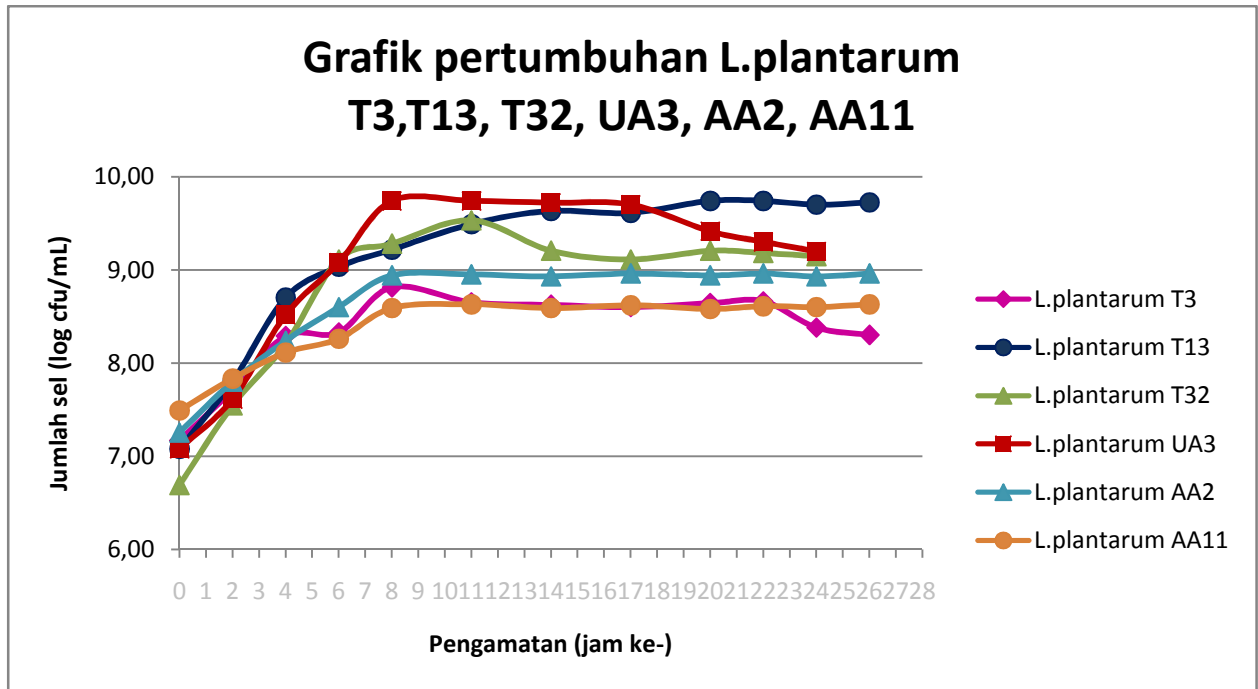
Tujuan penelitian adalah memperoleh cara penyiapan starter *powder L.plantarum* dengan viabilitas tinggi dengan kualitas terbaik untuk fermentasi hancuran kasava. Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk memilih strain *L.plantarum* terbaik berdasarkan laju pertumbuhan dan kadar sel pada saat memasuki fase stationer.

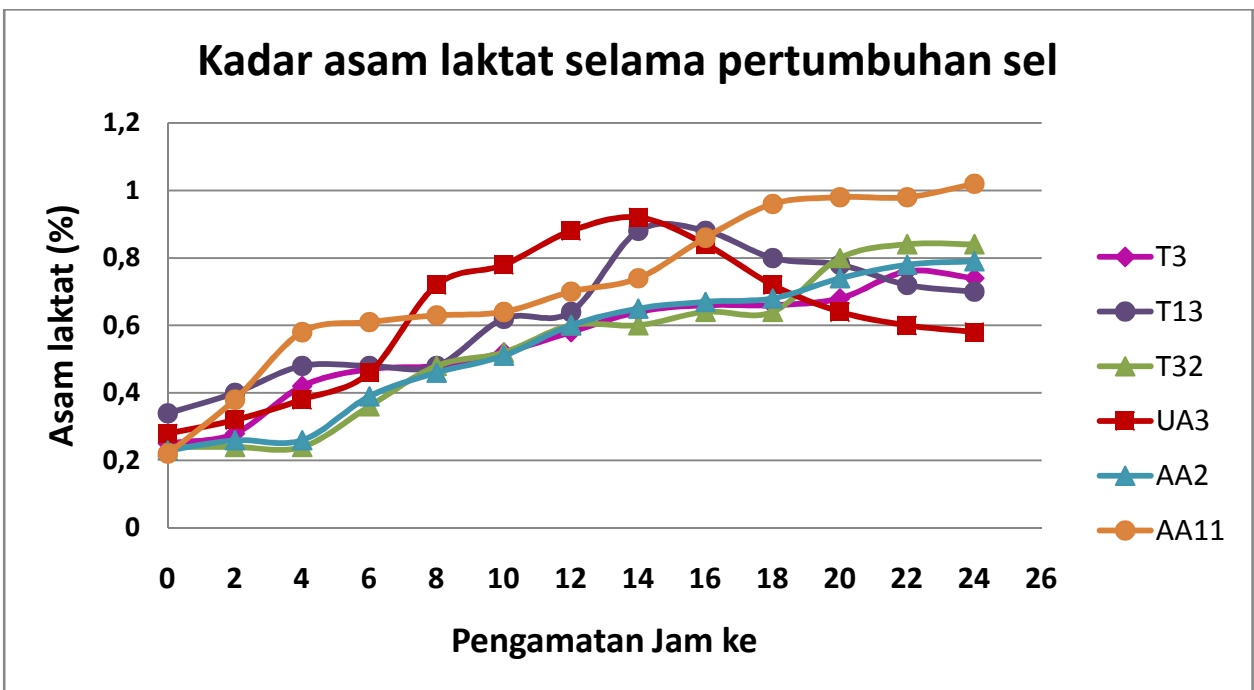
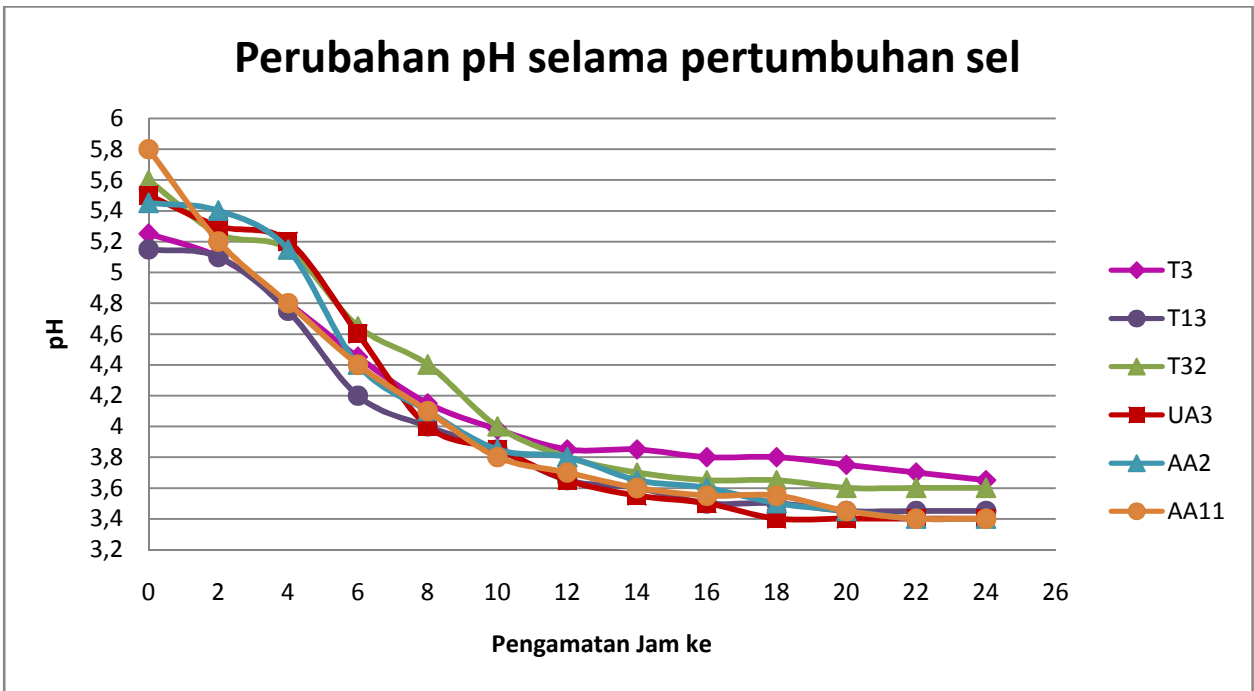
masing sel dari 6 macam strain, sebanyak 1 ml ke dalam 100 ml media MRSB kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Monitoring dilakukan setiap 2 jam, dengan metode *pour plate* dengan media MRSB yang ditambah dengan CaCO₃ sebanyak 0,5%. Setiap sampel dilakukan secara duplo. Kemudian dilihat koloni yang terbentuk dan dihitung koloni yang mempunyai zona jer nih dengan *pour plate*. Pengamatan dilakukan sampai pertumbuhan mencapai fase stasioner. pH dari media selama pertumbuhan sel diukur menggunakan pH meter (SCHOOT Instrument). Analisis kadar asam laktat dilakukan dengan cara Total Asam Tertitiasi (metode Tetchi,2012). Sepuluh gram sampel dicampur dengan 100 ml aquades. Campuran disaring menggunakan kertas Whatman no.1. Kemudian 10 ml filtrat dititiasi dengan NaOH 0,1 N menggunakan indikator PP. Total asam tertitiasi dinyatakan sebagai % asam laktat. Uji viabilitas sel BAL selama pertumbuhan sel dilakukan dengan metode *pour plate* (AOAC,1995). Media yang digunakan MRSB yang ditambah 1,5% agar dan 0,5% CaCO₃. Sampel diambil 5 ml masukkan ke dalam kantong plastik steril. Kemudian ditambah larutan NaCl 0,85% steril sebanyak 45 ml dan dilakukan homogenisasi dalam stomacher selama 1 menit. Sampel yang telah homogen diambil

1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan pengencer NaCl 0,85% steril, dan dibuat seri pengenceran. Saat pengenceran selalu dilakukan homogenisasi dengan menggunakan vortex. Pada setiap tiga seri pengenceran terakhir diambil 1 ml dan dimasukkan de dalam cawan petri steril, masing-masing dilakukan secara duplo. Kemudian

ditambahkan 10 – 15 ml MRSA dan 0,5% CaCO₃, lalu diratakan dengan menggeser cawan diatas meja membentuk angka delapan. Setelah memadat , cawan dibalik dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 – 72 jam dalam posisi terbalik. Jumlah koloni yang terbentuk dihitung dengan metode *pour plate*.

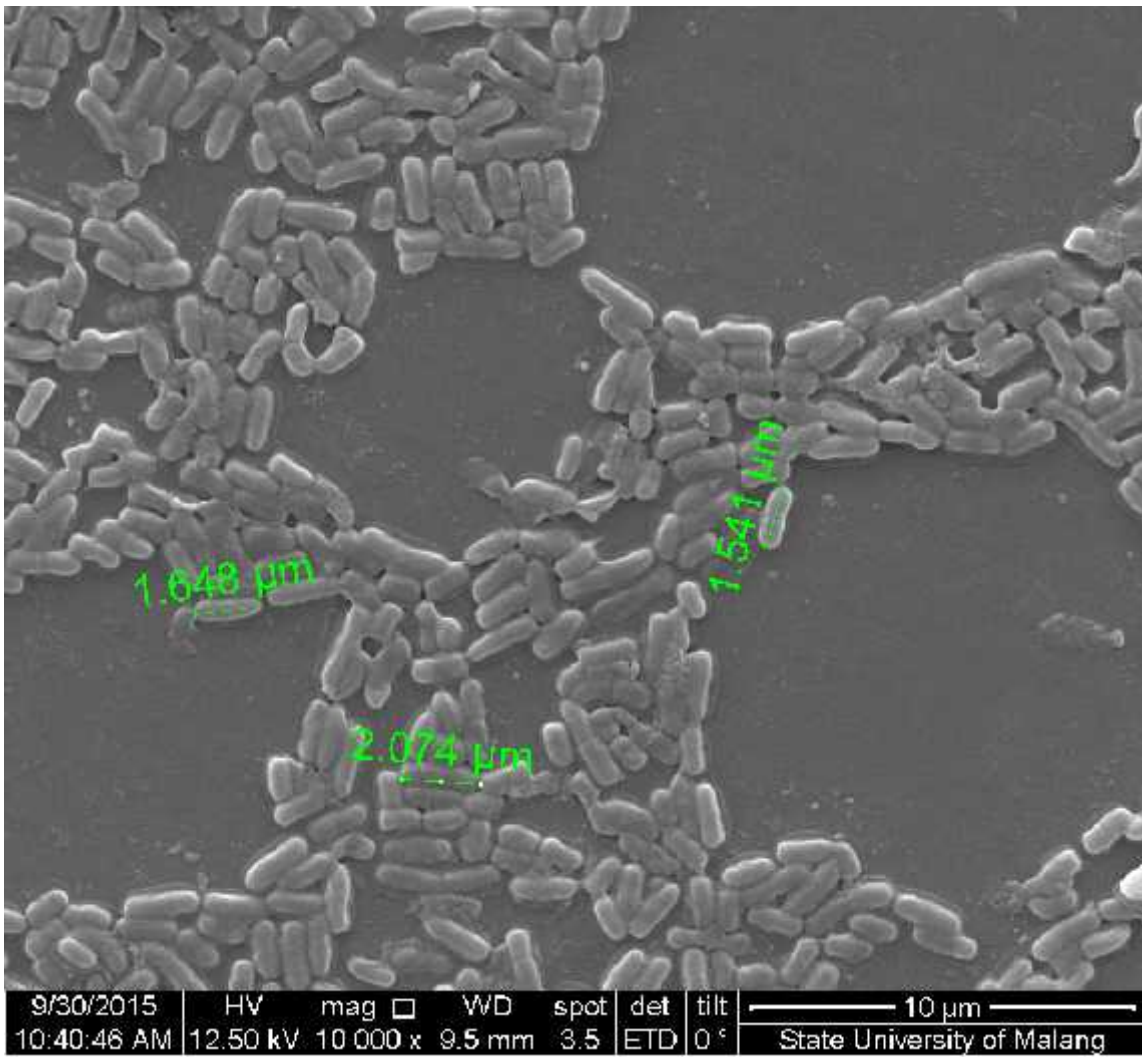
3.HASIL DAN PEMBAHASAN

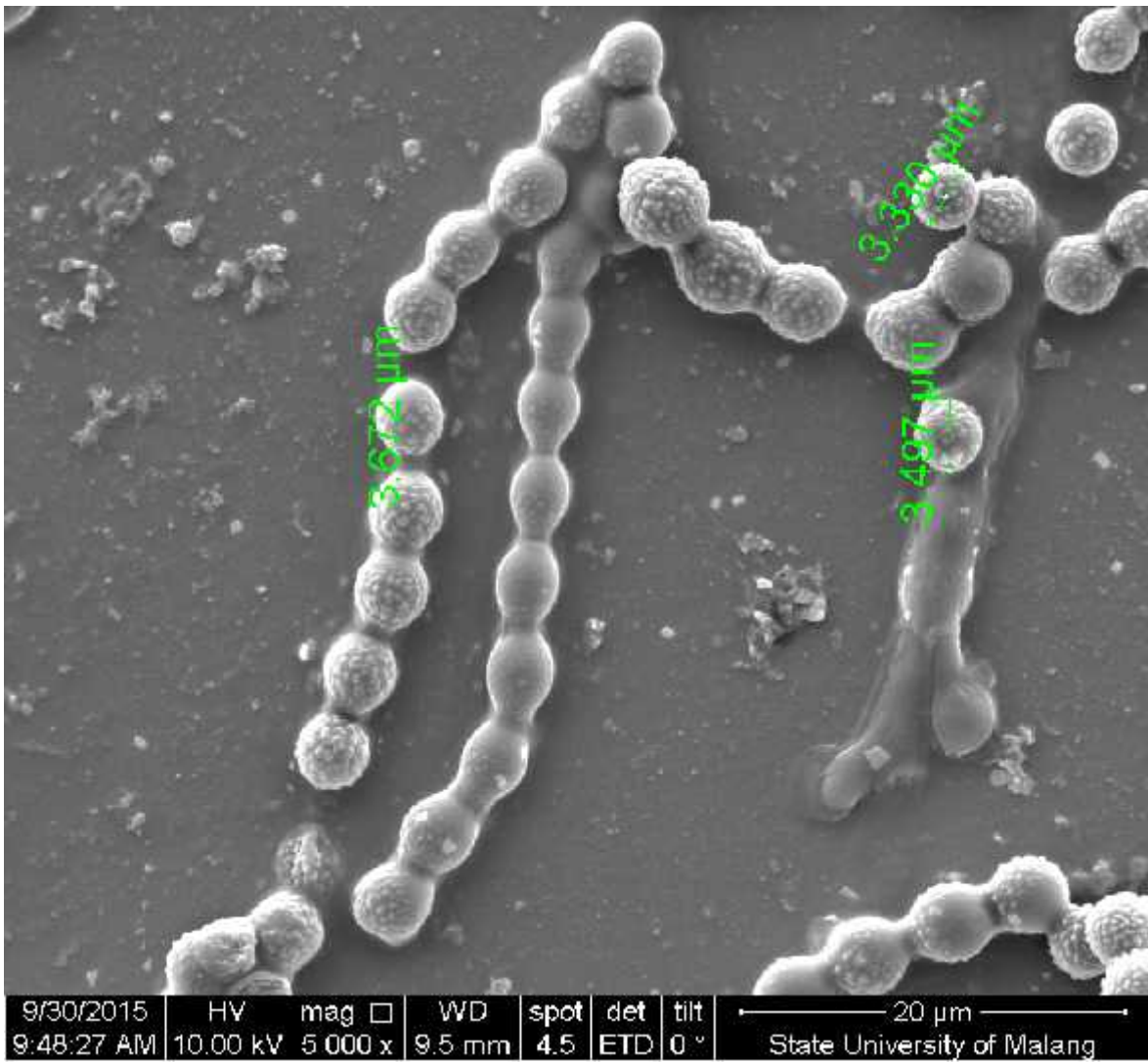


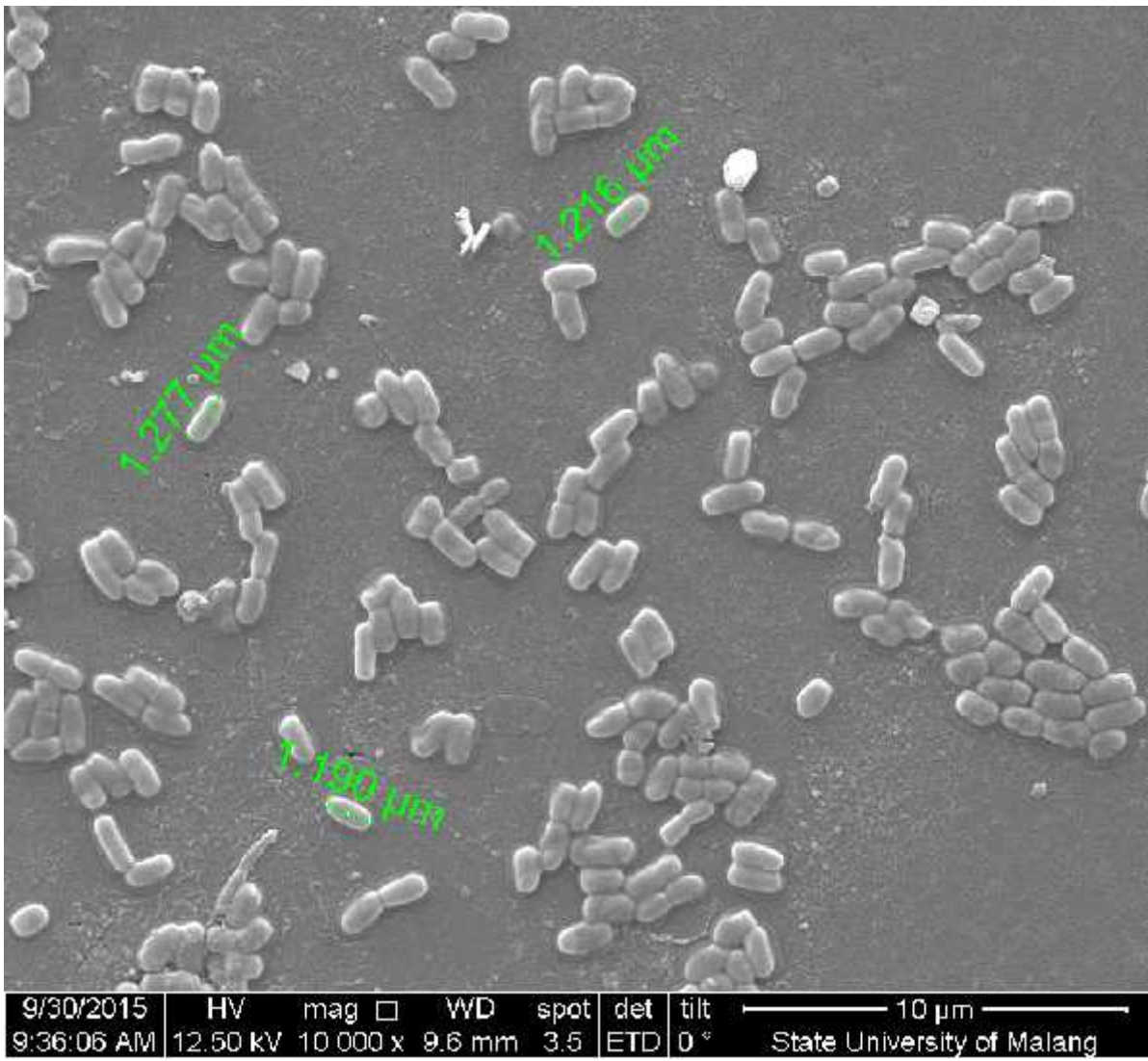


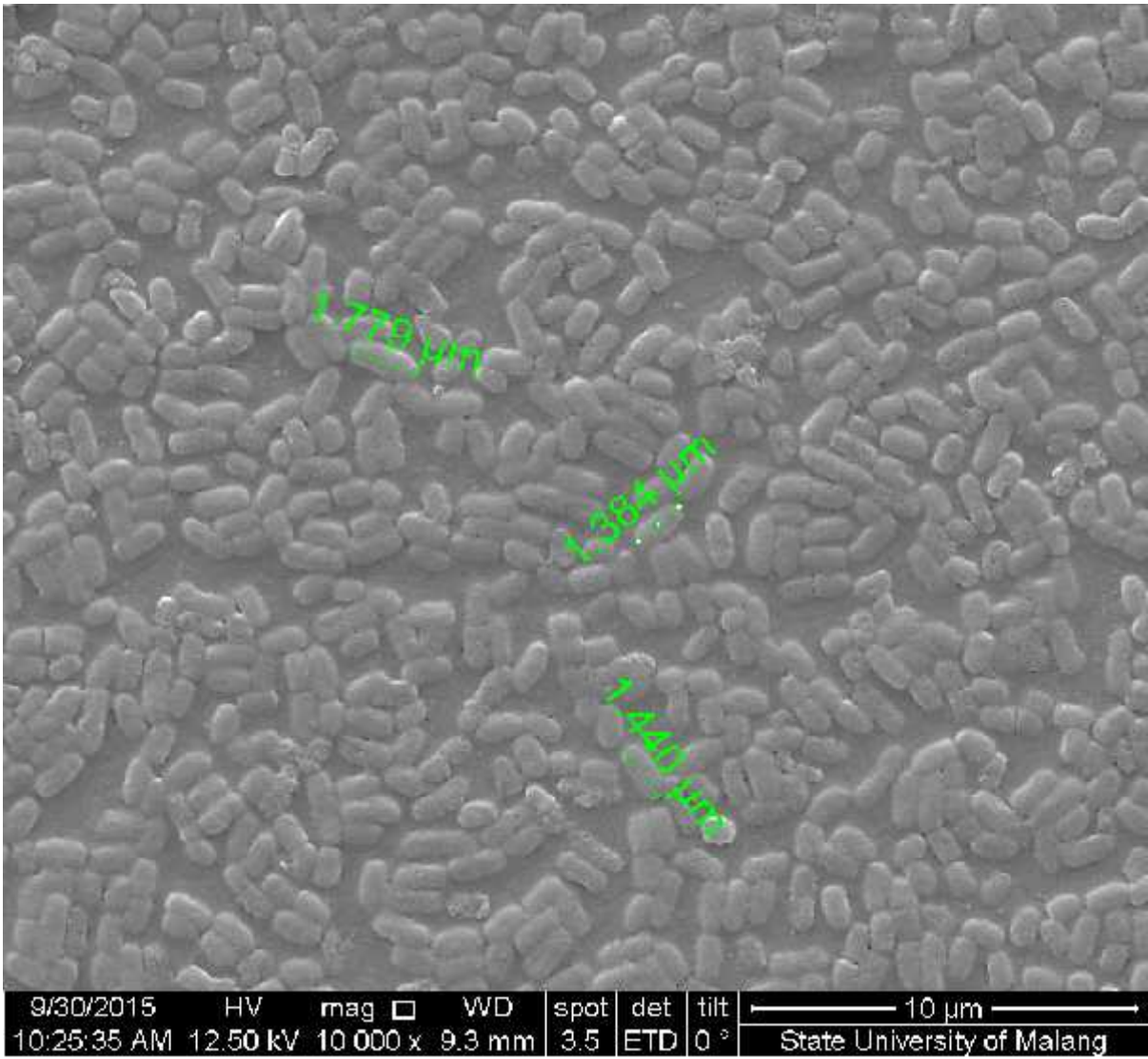
HASIL ANALISIS SEM

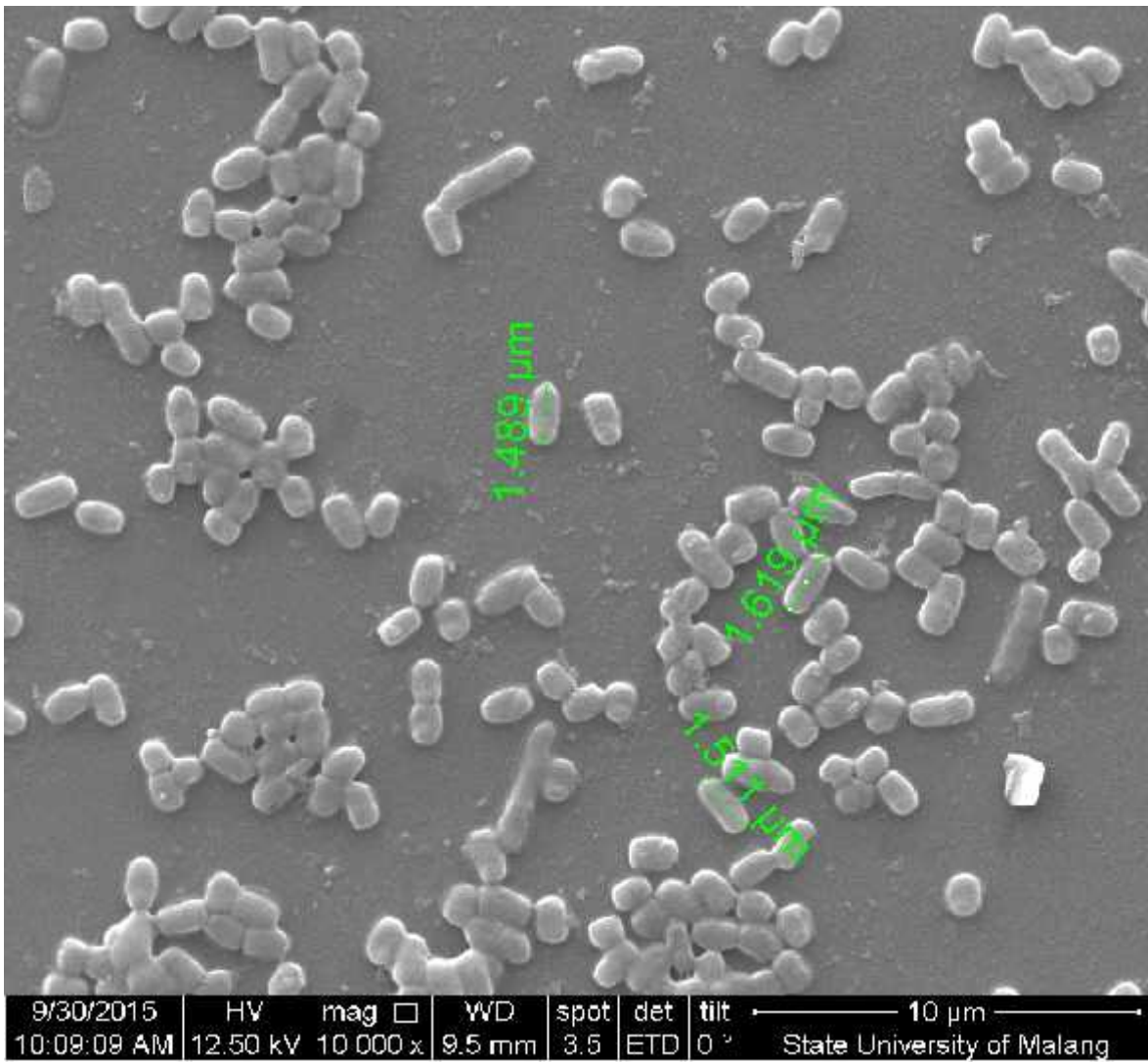
Scanning Electron Microscopy dari sel *Lactobacillus plantarum* segar, yang berasal dari 6 (enam) macam isolat lokal.

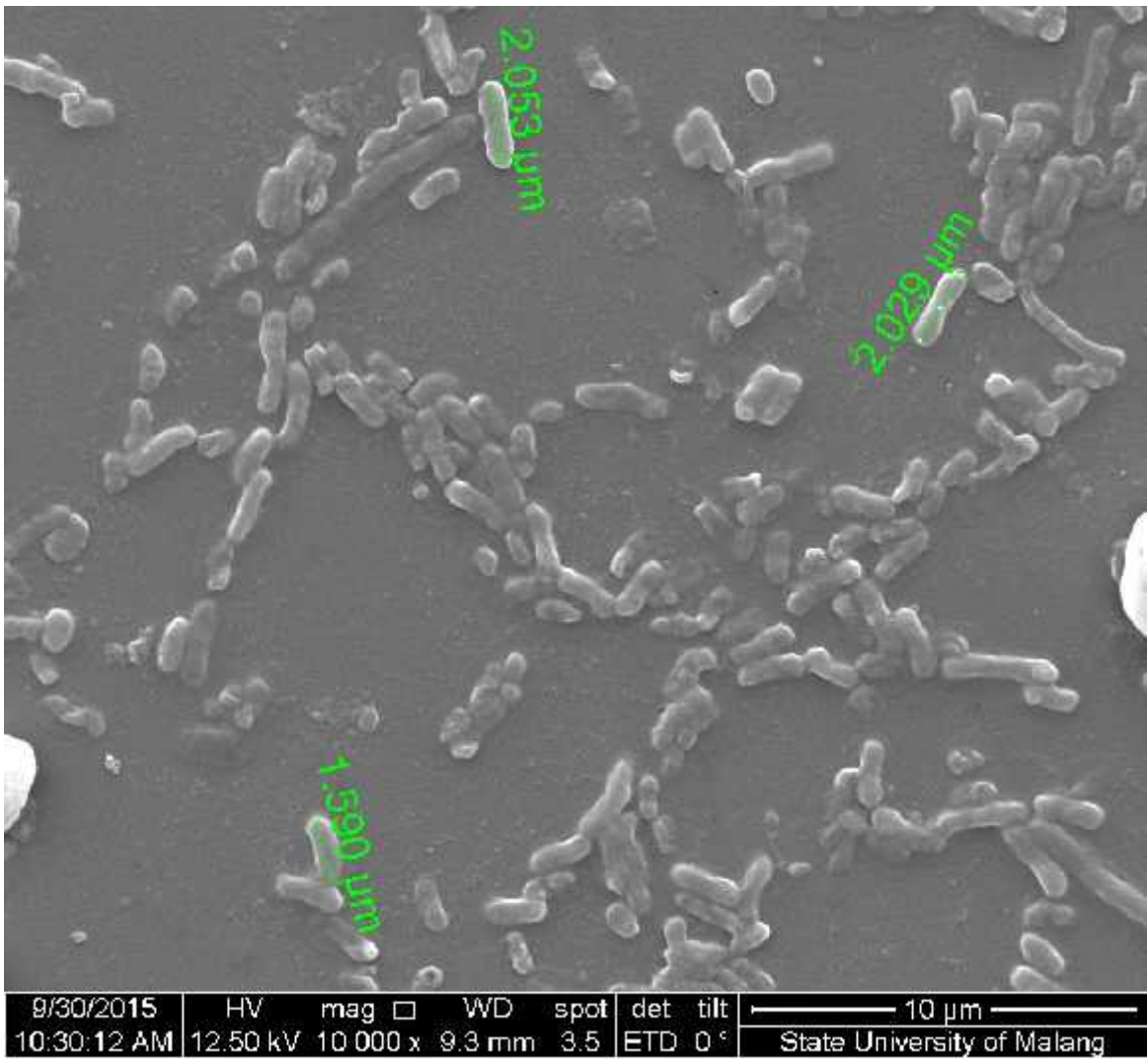












REKAPITULASI HASIL

Isolat Lp	Fase log (jam)	Fase stasioner (jam)	Jumlah sel log cfu/ml	pH	Asam laktat (%)	Ukuran sel (μm)
UA3	8	9	9,74	5,5 – 3,4	0,92 (j 14)	1,754
AA2	17	21	9,74	5,45 – 3,4	0,79 (j 24)	3,499
AA11	20	21	9,45	5,8 – 3,4	0,98 (j 22)	1,227
T3	8	21	8,81	5,25 – 3,65	0,76 (j 22)	1,534
T13	20	15	9,74	5,15 – 3,45	0,88 (j 14)	1,539
T32	11	15	9,53	5,6 – 3,6	0,94 (j 22)	1,890

4. KESIMPULAN

Hasil pengamatan yang diperoleh selama pertumbuhan sel *L.plantarum* dari 6 macam isolat adalah sebagai berikut:

- Kisaran nilai fase log dicapai pada jam ke 8 - 20
- Kisaran nilai fase stationer dicapai selama 9 -21 jam
- Jumlah pertumbuhan sel berkisar antara 8,81 – 9,74 log cfu/ml,
- Perubahan pH untuk semua isolat hampir sama, pada jam ke 0 antara 5,15 – 5,8 dan pada jam ke 24 adalah 3,4 – 3,65.
- Kisaran kadar asam laktat antara 0,76 – 0,98 %, yang dicapai pada jam ke 14 – 24
- Dari analisis hasil SEM, dapat diketahui bahwa ukuran sel berkisar

antara 1,227 – 1,890 μm kecuali pada isolat *L.plantarum* AA2

Dari semua hasil penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa isolat terbaik dan terpilih adalah isolat *L.plantarum* UA3 dengan spesifikasi sebagai berikut: fase log 8 jam, fase stationer 9 jam, jumlah sel 9,74 log cfu/ml, perubahan pH 5,5 – 3,4, kadar asam laktat 0,92% tercapai pada jam ke 14, ukuran sel 1,754 μm .

UCAPAN TERIMAKASIH

Terlaksananya penelitian tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak baik berupa material maupun non material. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya pada semua pihak, terutama kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana melalui program Penelitian Disertasi Doktor.

DAFTAR PUSTAKA

- Amoa-Awua, W.K.A., Appoh, F.E., and Jakobsen, M. 1996. Lactic Acid Fermentation of Cassava Dough into Agbelima. *International Journal of Food Microbiology* 31 : 87 – 98.
- Arisanti, D. 2012. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Selama Penyimpanan dan Penyiapan Ragi Mocaf Serta Aplikasinya pada Fermentasi Ubi Kayu Segar. Tesis Program PascaSarjana. Universitas Gadjah Mada.
- Bertolini, A. C., Mestres, C. and Colona, P., 2000, Rheological Properties of Acidified and UV-irradiated Starches, *Starch*, 52: 340-344.
- Bertolini, A. C., Mestres, C., Raffi, J., Buleon, A., Lerner, D. and Colona, P., 2001, Photodegradation of Cassava and Corn Starches, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 675-682.
- Bertolini, A.C, Mestres, C., Lourdin, D., Della Valle, G dan Colonna, P. 2001. *Relationship between Thermomechanical Properties and Baking Expansion of Sour Cassava Starch (Polvilho Azedo)*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81 : 429–435.
- Caramgo, C., Colona, P., Buleon, A. and Molard, D. R., 1988, Functional Properties of Sour Cassava (*Manihot utilissima*) Starch: Polvilho Azedo., *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 429-435.
- Carvalho, A.S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F.X., and Gibbs, P. 2004. Relevant Factors for the Preparation of Freeze-Dried Lactic Acid Bacteria. *International Dairy Journal* Volume 14 Issue 10 : 836-847.
- Gilliland, S.E. 1985. *Bacterial Starter Cultures for Foods*. CRC Press , Inc. Boca Raton, Florida.
- Huch, M., Hanak, A., Specht, I., Dortu, C.M., Thonart, P., Mbugua, S., Holzapfel, C., and Franz, C.M.A.P. 2008. Use of *Lactobacillus* strains to Start Cassava Fermentations for Gari Production. *International Journal of Food Microbiology* 128 : 258-267.
- Hutkins, R.W. 2006. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing Professional, USA.
- Lacerda, I. C.A., Miranda, R.L., Borelli, B.M., Nunes, A.C., Nardi, R.M.D., Lachance, M.A. and Rosa, C.A., 2005, Lactic acid bacteria and yeasts associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava starch in Brazil, *International Journal of Food Microbiology* 105: 213-219.
- Laksmi, B.S., Fardiaz, S, dan Tandrianto, N. 1997. Produksi Kultur Kering *Lactobacillus* dan Aplikasinya pada Pengawetan Ikan Lemuru. *Bul.Tekmol dan Industri Pangan*. Vol VIII No.1.
- LeeLeroy, Frederic dan Luc De Vuyst. 2004. *Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry*. *Trends in Food Science & Technology* 15 (2004) 67–78.
- Nuraida, N.2012. Peran Bakteri Asam Laktat dalam Proses Fermentasi. <http://www.foodreview.biz/preview.php?view2&id=56213>. Diakses 12 April 2012.
- Plata-Oviedo, M. and Camargo, C., 1998, Effect of Acid Treatments and Drying Processes on Physicochemical Functional Properties of Cassava Starch, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77: 103-108.
- Purwono, 1985. *Produksi Kultur Starter Kering Lactococcus lactis*

- subsp.cremoris* dan Aplikasinya pada Pengawetan Ikan Lemuru. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Putri, W.D.R., Widyaningsih, T.D., dan Ningtyas, D.W. 2000. Produksi Biolaktat Kering Kultur Campuran *Lactobacilus sp* dan *Saccharomyces cereviceae*. Jurnal Teknologi Pertanian Vol 9 No 2 : 138-149
- Sobowale, A.O, Olurin, T.O., and Oyewole, O.B. 2007. Effect of Lactid Acid Bacteria Starter sCulture Fermentation of Cassava on Chemical and Sensory Characteristic of Fufu Flour. African Journal of Biotechnology Vol 6(16) pp 1954-1958
- Sobowale, A.O., Olurin, T.O. and Oyewole, O.B., 2007, Effect of lactic acid bacteria starter culture fermentation of cassava on chemical and sensory characteristics of fufu flour, *African Journal of Biotechnology*, Vol.6 (16): pp.1954 – 1958
- Tetchi, F.A. 2012. Effect of Cassava Variety and Fermentation Time on Biochemical and Microbiological Characteristics of Raw Artisanal Starter for Attieke Production. Innovative Romanian Food Biotechnology Vol 10
- Witono, Y., 2008, Peran Bioteknologi pada produk pangan yang thoyyib dari bahan local untuk ketahanan pangan nasional” dalam: Prosiding Seminar Nasional, Peran Bioteknologi bagi Kesejahteraan Umat, *Yayasan Memajukan Bioteknologi Indonesia (YMBI) dengan Lembaga Pengkajian Pangan, Obat dan Kosmetika*, Yogyakarta.