

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Otak-Otak Ikan

Otak-otak adalah salah satu hasil produk olahan ikan berupa pasta daging ikan yang diberi bermacam-macam bumbu dan dibentuk sesuai selera dan merupakan modifikasi antara produk bakso dan kamaboko (Gusmanto dkk. (2016); Nurjanah dkk., 2005). Proses pembuatan otak-otak ikan dilakukan dengan mencuci dan membersihkan ikan, lalu daging ikan digiling hingga halus. Daging yang telah digiling lalu diberi bumbu dan bahan tambahan yang diperlukan serta diaduk supaya adonan tercampur rata (Putra dkk., 2015). Syarat mutu otak-otak ikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Otak-Otak Ikan SNI 7757:2013

Jenis uji	Satuan	Persyaratan
a. Sensoris		Min. 7 (Skor 3-9)
b. Kimia		
- Kadar air	%	Maksimal 60,0
- Kadar abu	%	Maksimal 2,0
- Kadar protein	%	Minimal 5,0
- Kadar lemak	%	Maksimal 16,0
c. Cemarkan bakteri		
- ALT	koloni/gram	Maksimal $5 \times 10^4$
- <i>Escherichia coli</i>	APM/gram	< 3
- <i>Salmonella</i>	-	Negatif
- <i>Vibrio cholerae</i> *	-	Negatif
- <i>Staphylococcus aureus</i> *	koloni/gram	Maksimal $1 \times 10^2$
d. Cemarkan logam		
- Kadmium (Cd)	mg/kg	0,1
- Merkuri (Hg)	mg/kg	0,5
- Timbal (Pb)	mg/kg	0,3
- Arsen (As)	mg/kg	1,0
- Timah (Sn)	mg/kg	40,0
e. Cemarkan fisik		
- Filth	-	0

Catatan: \*) Bila diperlukan (Sumber: Badan Standarisasi Nasional, 2013)

Otak-otak ikan yang kualitasnya baik memiliki kenampakan yang bersih dan utuh, beraroma khas dan harum oleh karena penambahan bumbu, rasanya lezat dengan tekstur yang tidak terlalu lembek (Falahudin, 2009). Umur simpan otak-otak ikan yang disimpan pada suhu ruang hanya berkisar 1-2 hari (Alifah, 2016). Penurunan mutu otak-otak ikan mulai terlihat setelah penyimpanan pada suhu ruang di hari pertama. Pada hari kedua akan terjadi penurunan mutu, baik dari segi kenampakan, aroma, rasa, tekstur dan warna otak-otak. Pada hari keempat penyimpanan, otak-otak tidak lagi memenuhi syarat mutu mikrobiologis sehingga tidak layak untuk dikonsumsi (Falahudin 2009).

### **B. Bakteri Asam Laktat**

Bakteri asam laktat didefinisikan sebagai kelompok bakteri mikroaerofilik Gram positif yang memfermentasi gula heksosa untuk memproduksi asam laktat (Makarova, dkk., 2006). Bakteri asam laktat secara alami ada pada buah-buahan, sayur-sayuran dan sereal serta susu. Bakteri ini juga dapat ditemukan ketika diisolasi dari tanaman, produk susu dan hewan, yang dapat diimplikasikan bahwa bakteri ini dapat beradaptasi dengan berbagai lingkungan yang beragam (Wood, 1998). Ciri dari bakteri asam laktat antara lain selnya berbentuk bulat atau batang, katalase negatif, non-motil, Gram positif dan menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir dari fermentasi karbohidrat (Albari dan Murti, 2003).

Berdasarkan pola fermentasinya, bakteri asam laktat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri pada

kelompok homofermentatif mengubah lebih dari 85 % glukosa menjadi asam laktat melalui jalur glikolisis Embden-Meyerhof-Parnas, tidak memfermentasi pentosa atau glukonat serta produk utama hasil fermentasi berupa asam laktat, sementara kelompok heterofermentatif memproduksi 50 % asam laktat bersama dengan etanol (atau asam asetat) dan CO<sub>2</sub> dari glukosa. (Yang dkk., 2013). Bakteri asam laktat telah digunakan dalam fermentasi makanan sejak lama dan bisa berfungsi sebagai agen fermentasi dan berpotensi menyehatkan dan telah diakui aman (*generally recognized as safe*) (Song dkk., 2012).

### **C. *Leuconostoc mesenteroides***

*Leuconostoc* adalah bakteri yang dapat tumbuh pada suhu optimum 25 °C (mesofilik), Gram positif, tidak mengkatalase, non-motil, aerotoleran dan heterofermentatif serta biasa terlihat dalam bentuk kokus yang berantai ataupun berpasangan. *Leuconostoc* termasuk bakteri yang membutuhkan nutrisi yang kompleks, membutuhkan sumber asam amino dan vitamin serta karbohidrat yang nantinya akan difermentasi dan dipakai sebagai sumber energi. Bakteri ini biasanya tumbuh baik di medium *de Man Rogosa and Shape* (MRS) cair dan sering membutuhkan tambahan vitamin B, mineral dan asam amino untuk tumbuh. Asam amino spesifik yang dibutuhkan adalah aspartat, glutamat, valin, leusin, isoleusin serta asam amino lain tergantung dari strain bakterinya (Holland dan Liu, 2011).

*Leuconostoc* dapat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan kebutuhan asam aminonya, yaitu strain pembentuk dextran yang membutuhkan hingga 8 jenis asam amino (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* dan

*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*) dan strain yang tidak membentuk dextran yang membutuhkan lebih dari 8 jenis asam amino. Semua strain tersebut membutuhkan valin, asam glutamat, tiamin, asam pantotenik dan biotin. *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* memproduksi dextran dari sukrosa dan memfermentasi sejumlah gula, membutuhkan banyak asam amino dan vitamin lebih banyak dibandingkan *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* untuk pertumbuhan serta dapat hidup pada rentang suhu 10-37 °C dengan suhu optimum 20-30 °C (Dellaglio dkk., 1995).

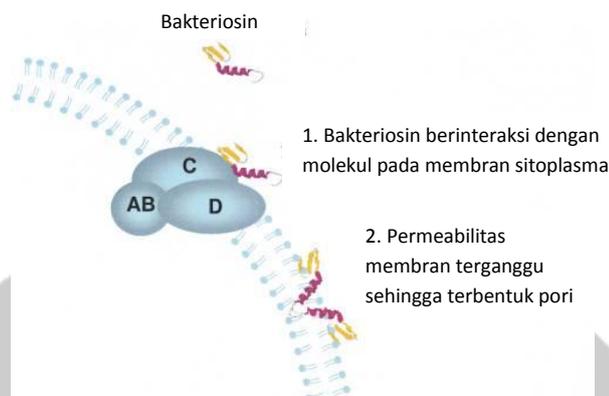
#### **D. Klasifikasi dan Mekanisme Penghambatan Oleh Bakteriosin**

Bakteriosin adalah antimikrobia berupa peptida yang disintesis secara ribosomal yang dapat membunuh atau menghambat strain bakteri, memiliki spektrum sempit (menghambat strain bakteri yang berkerabat dekat) serta tidak berbahaya bagi tubuh manusia dan lingkungan sekitar (Yang dkk., 2014). Bakteriosin dikategorikan aman untuk manusia karena dapat terdegradasi oleh enzim proteolitik yang ada pada saluran cerna. Selain itu, bakteri penghasilnya yaitu bakteri asam laktat merupakan bakteri alami yang terdapat pada makanan serta telah lama dimanfaatkan dalam industri susu. Bakteriosin memiliki mekanisme aksi yang dapat dibagi dalam dua kelompok, yaitu bakterisidal yang bekerja dengan atau tanpa menyebabkan lisis sel, serta bakteriostatik yang bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri. Bakteri asam laktat pada umumnya akan menghambat bakteri Gram positif (Silva dkk., 2018).

Bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat diklasifikasikan dalam empat kelompok berdasarkan karakteristik biokimianya. Bakteriosin

kelas I (lantibiotik) merupakan protein membran aktif berukuran kecil yang mengandung asam amino lantionin dan tahan panas. Bakteriosin kelas II (non-lantibiotik) berupa peptida non-lantionin yang berukuran kecil (< 15.000 Da), bersifat hidrofobik serta tahan panas. Bakteriosin kelas II dibagi menjadi tiga kategori, yaitu kelas IIa yaitu pediosin yang memiliki efek anti listeria yang kuat; kelas IIb yaitu bakteriosin yang terdiri dari dua peptida dan keduanya memiliki aktivitas antimikrobia yang kuat; kelas IIc yaitu bakteriosin yang disekresi dengan mekanisme *sec-dependent*. Bakteriosin kelas III memiliki berat molekul yang besar (> 15.000 Da) dan merupakan protein yang sensitif terhadap panas. Bakteriosin kelas IV adalah bakteriosin kompleks yang terdiri dari sebagian protein ditambah satu atau lebih komponen non-protein seperti lemak atau karbohidrat yang dibutuhkan untuk aktivitasnya (Klaenhammer, 1993; Hoover, 2000).

*Leuconostoc mesenteroides* yang dikulturkan pada media deMan Rogosa and Shape (MRS) pada suhu 25 °C selama 24-36 jam akan memproduksi bakteriosin paling optimal (4000 AU/mL). Bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri *Leuconostoc mesenteroides* bersifat sensitif terhadap beberapa enzim proteolitik seperti pepsin, pronase E, proteinase K, tripsin dan alfa kromotripsin (Wulijideligen dkk., 2012). Mekanisme aksi bakteriosin dalam menghambat bakteri dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme aksi bakteriosin dalam menghambat bakteri patogen (Drider dkk., 2006)

Bakteriosin bekerja dengan cara membentuk pori pada membran sel mikroorganisme target dan menyebabkan ketidakseimbangan ionik sehingga fosfat anorganik keluar dari sel. Hal ini menyebabkan hilangnya gaya gerak proton (*proton motive force*) yang melibatkan kehilangan sebagian atau seluruh potensial membran dan gradien pH. Aktivitas letal dari bakteriosin dikaitkan dengan kehilangan dari gaya gerak proton, terutama kehilangan ATP intraselular yang mencapai 98,9 % dan penghambatan aktivitas pengambilan asam amino yang dimediasi oleh transpor aktif (Ennahar dkk., 2000).

#### **E. Enkapsulasi dan Pembuatan Serbuk Bakteriosin**

Enkapsulasi adalah teknik melindungi material yang dapat berupa komponen bioaktif menggunakan penyalut yang membentuk lapisan kompleks yang menyelimuti inti (Kailasapathy, 2002). Teknik *spray drying* dapat melapisi komponen aktif di dalam suatu lapisan pelindung di bagian luar sementara mengubah bentuknya dari cairan menjadi bentuk yang kering dan stabil. Akibat dari sifat pembentuk film yang melekat, bahan pembentuk dinding mengering lebih cepat dibandingkan medium (biasanya air) yang

dipakai untuk mensuspensi komponen inti untuk preparasi larutan. Ini menyebabkan bahan pembentuk dinding dapat membentuk *crust* atau lapisan yang melapisi sekitar *droplet* yang di dalamnya terdapat bahan inti. Partikel kering mikroenkapsulasi akan didapat setelah proses *spray drying* selesai (Anandharamakrishnan dan Ishwarya, 2015).

Proses mikroenkapsulasi oleh *spray drying* dapat dibagi menjadi 3 langkah, yaitu: (1) Emulsifikasi bahan inti ke larutan *coating* (2) Atomisasi emulsi ke dalam *spray chamber* (3) Pengeringan *droplet* dari emulsi yang teratomisasi melalui kontak dengan udara panas (Anandharamakrishnan dan Ishwarya, 2015). *Spray dryer* merupakan alat yang digunakan untuk menguapkan dan mengeringkan larutan dan bubur hingga kering secara termal dan dihasilkan padatan kering. Alat ini memakai atomisasi cairan untuk membentuk *droplet* yang kemudian dikeringkan dengan udara kering dengan suhu dan tekanan tinggi (Octaria, 2015). Bahan pengkapsul harus memiliki kemampuan untuk larut dan kemampuan mengemulsi yang tinggi, dapat membentuk lapisan film serta menghasilkan larutan dengan konsentrasi tinggi. Bahan pengkapsul juga harus mampu melindungi bahan aktif dari pengaruh panas, cahaya, oksidasi, kelembaban, mencegah penguapan komponen volatil serta mengubah bahan aktif menjadi *free flowing powder* untuk mengurangi masalah penanganan dan pencampuran makanan kering (Young dkk., 1993).

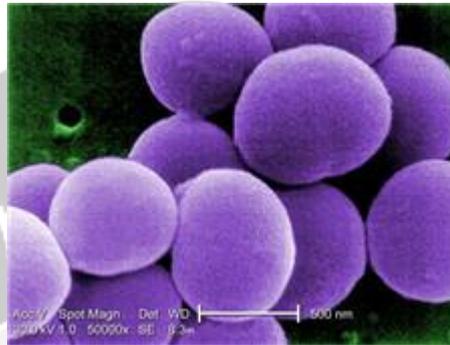
Kombinasi antara protein susu dengan maltodekstrin sebagai bahan pengkapsul untuk enkapsulasi dapat meningkatkan retensi aktivitas enzim dan memperlambat pencoklatan dan kristalisasi laktosa selama penyimpanan pada

berbagai kondisi kelembaban relatif yang berbeda (Agustin dan Oliver, 2014). Maltodekstrin adalah produk hidrolisis pati yang dapat dimanfaatkan sebagai pengental dan pengemulsi yang memiliki sifat mudah larut dalam air dingin, cepat terdispersi, dapat membentuk film maupun *body*, daya ikatnya kuat, serta sifat pencoklatan yang rendah (Srihari dkk., 2010). Susu skim adalah produk yang didapatkan dari hasil pemisahan susu dan memiliki kadar lemak yang rendah, penampakannya berwarna putih, tidak menggumpal serta bersifat *free flowing* (Liana, 1987). Penambahan protein susu untuk mikroenkapsulasi dapat diterapkan untuk mendapatkan bahan yang dapat larut dalam air. Protein susu dapat dikombinasikan dengan konstituen makanan lainnya untuk melindungi enzim selama pengeringan dengan cara memerangkapnya di dalam matriks amorf. Penggunaan protein whey sebagai karier untuk komponen bioaktif yang sensitif bergantung dari pembentukan gel, yang menyebabkan *whey* protein dapat berperan sebagai karier untuk komponen bioaktif yang bersifat hidrofilik dan sensitif terhadap panas (Agustin dan Oliver, 2014).

#### **F. *Staphylococcus aureus***

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, bersifat aerob maupun fakultatif anaerob, koagulase positif, berbentuk kokus dan membentuk struktur seperti anggur. Bakteri ini mampu hidup pada temperatur 7 °C hingga 48 °C (temperatur optimum 35-37 °C) dan dapat tumbuh pada pH 4 hingga 10 dengan pH optimum berkisar antara 6-7. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang bisa bertahan di lingkungan dengan kadar garam

tinggi, serta tidak membentuk spora (Deshpande, 2002). Bentuk bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Centers for Disease Control and Prevention, 2017)

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu mikroorganisme flora alami pada permukaan kulit manusia yang dapat menghasilkan toksin (Vincent dan Rotstein, 2008) serta merupakan agen penyebab *food-borne disease* yang kerap terjadi di masyarakat (Riemann dan Bryan, 1979). Toksin yang diproduksi yaitu enterotoksin, memiliki sifat halotoleran (tahan pada lingkungan garam) serta tahan panas (Stewart, 2005) dan dapat menyebabkan sakit pada manusia (Supartono, 2006). Penyebab terbesar bakteri *Staphylococcus aureus* dapat masuk ke dalam bahan pangan disebabkan oleh rendahnya sanitasi pekerja yang menangani bahan pangan tersebut. Selain itu, lingkungan tempat menyiapkan bahan pangan yang kurang higienis turut berperan dalam tingginya tingkat kontaminasi (Ray, 2001).

### G. Hipotesis

1. Serbuk bakteriosin dari *Leuconostoc mesenteroides* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada otak-otak ikan.
2. Serbuk bakteriosin dari *Leuconostoc mesenteroides* dapat memperpanjang waktu penyimpanan otak-otak ikan.
3. Variasi konsentrasi serbuk bakteriosin akan memengaruhi kualitas otak-otak ikan.

