

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Deskripsi Makanan Fermentasi

Fermentasi merupakan proses untuk menghasilkan produk pangan dengan meningkatkan kandungan gizi, meningkatkan nilai produk berdasarkan penampilan dan rasa, menghasilkan produk yang lebih aman untuk dikonsumsi, dan memperpanjang masa simpan (Smid dan Hugenholtz, 2010). Menurut Lestari dkk. (2018), fermentasi BAL dibedakan menjadi heterofermentatif dan homofermentatif. Heterofermentatif menghasilkan lebih dari 1 jenis metabolit, misalnya asam laktat, asam asetat, CO<sub>2</sub>, sedangkan homofermentatif hanya menghasilkan 1 jenis metabolit saja, misalnya asam laktat. Proses pembuatan makanan fermentasi dapat dilakukan melalui 3 cara, yaitu:

1. Fermentasi alami atau spontan, merupakan proses pembuatan makanan fermentasi bahan pangan yang secara alami telah mengandung mikrobia dan diinkubasi pada kondisi optimal untuk pertumbuhan mikrobia yang diinginkan tetapi menghambat pertumbuhan mikrobia yang lain, misalnya gatot. Proses ini menghasilkan makanan yang beresiko menyebabkan penyakit karena mikrobia patogen mungkin tumbuh selama proses fermentasi.
2. Fermentasi dengan *starter*, merupakan proses pembuatan makanan fermentasi dengan menambahkan *starter* dan diinkubasi pada kondisi optimal mikrobia yang digunakan sebagai *starter*, misalnya *yoghurt*.

3. Fermentasi terkendali, merupakan proses pembuatan makanan fermentasi melalui proses pemanasan dan diinokulasikan kultur murni dengan konsentrasi  $10^6$  sel per millimeter, kemudian diinkubasi pada kondisi optimal pertumbuhan kultur *starter*, misalnya gatot yang difermentasi dengan isolat indigenous gatot singkong (*Rhizopus oligosporus* dan *Lactobacillus manihotivorans*) (Astriani, 2015).

Makanan fermentasi adalah makanan yang dibuat dengan menambahkan mikroorganisme atau enzim sehingga mengalami perubahan biokimia yang dikehendaki dan memberikan ciri spesifik makanan tersebut. Kelebihan makanan fermentasi antara lain kandungan gizi lebih tinggi, mudah dicerna, lebih aman, dan memberikan rasa lebih baik (Lestari dkk., 2018). Proses pembuatan makanan fermentasi turun temurun dari nenek moyang sehingga disebut makanan tradisional. Makanan fermentasi yang dikenal di Indonesia antara lain tempe, tapai, teh hijau, sayur asin, dan bekasam (Masdarini, 2011).

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

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikrobia yang secara alami berada di dalam saluran pencernaan manusia yang berfungsi mengubah laktosa menjadi asam laktat untuk menurunkan pH saluran pencernaan dan mencegah kolonisasi bakteri (Feliatra, 2018). BAL mampu menghasilkan asam organik seperti asam laktat dan asam asetat dengan cara memfermentasi karbohidrat. Asam yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan mikrobia lain yang

tidak diinginkan selama proses fermentasi berlangsung (Yuliana, 2008). BAL merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak motil, katalase negatif, oksidasi positif, tidak membentuk spora, anaerob, dan memiliki suhu optimum pertumbuhan  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  (Romadhon dkk., 2012). BAL berperan dalam menjaga keseimbangan mikroflora usus serta membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh yang dikenal sebagai efek probiotik (Setioningsih dkk., 2004), mengatasi *lactose intolerance*, mencegah kanker usus besar, dan menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Halim dan Zubaidah, 2013).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang berkontribusi dalam bidang pangan yang dimanfaatkan sebagai pangan fungsional dan pengawet alami produk pangan fermentasi. Pemanfaatan BAL sebagai biopreservatif dapat dilakukan dengan menambahkan mikroorganisme secara langsung atau dengan metabolit sebagai antimikrobia. Bakteri asam laktat dapat secara alami menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga disebut sebagai *food grade microorganisms* karena tidak menghasilkan senyawa racun yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Metabolit aktif yang dihasilkan oleh BAL diantaranya adalah asam laktat, etanol, hidropoksida, dan bakteriosin (Ibrahim dkk., 2015).

### **C. Deskripsi Probiotik**

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat ditambahkan dalam bahan pangan yang memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan

saluran pencernaan (Fuller, 1989) seperti menyeimbangkan mikroflora usus, meningkatkan sistem imunitas, memperpendek durasi diare, dan membantu pencernaan laktosa bagi penderita *lactose intolerance* (Widiyaningsih, 2011). BAL telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik untuk menghasilkan pangan fungsional, tetapi tidak semua spesies bersifat probiotik. Karakteristik yang harus dimiliki mikrobia untuk dimanfaatkan sebagai probiotik adalah tahan terhadap pH asam dan garam empedu, memiliki aktivitas antimikrobia, memiliki kemampuan untuk melekat pada mukus, dan mampu mencerna prebiotik (Widodo dkk., 2018).

### **1. Ketahanan terhadap pH Asam**

Ketahanan terhadap pH asam dipengaruhi oleh permeabilitas membran dinding sel terhadap proton ( $H^+$ ) yang ditentukan oleh aliran proton keluar secara aktif yang diaktivasi oleh ATPase untuk translokasi  $H^+$ . Perbedaan ketahanan membran sel bakteri terhadap kerusakan akibat penurunan pH ekstraseluler menyebabkan perbedaan ketahanan sel pada pH rendah. BAL mampu mempertahankan pH intraseluler dan sitoplasma lebih basa dari pH ekstraseluler sehingga memiliki toleransi terhadap asam. Perbedaan komposisi asam lemak dan protein penyusun mempengaruhi kemampuan ketahanan bakteri terhadap pH asam (Siegumfeldt dkk., 2000).

Penelitian yang dilakukan oleh Halim dan Zubaidah (2013) menunjukkan, isolat K1-1242 yang diisolasi dari sawi asin memiliki ketahanan terhadap pH 2,5 sebesar 43,53 % dan pH 3,0 sebesar 69,86 %.

Ketahanan isolat ini lebih tinggi daripada isolat probiotik komersial *L.casei*, yaitu 38,57 % terhadap pH 2,5 dan 62,75 % terhadap pH 3,0. Isolat *Lactobacillus* yang diisolasi dari tongcai (TT2), minuman saguer (Sg.Mnd.N2), pindang ikan selar (PSL1), dan sawi asin (S5) berpotensi sebagai probiotik karena mampu bertahan hidup pada pH asam dengan isolat S5 merupakan isolat terbaik (Hardiningsih dkk., 2006). Isolat yang berpotensi sebagai kandidat probiotik yang baik apabila memiliki ketahanan hidup  $\geq 50$  % (Saskia, 2014).

## 2. Ketahanan terhadap Garam Empedu

Kemampuan untuk bertahan pada garam empedu merupakan karakteristik penting pada BAL karena berpengaruh terhadap aktivitas di saluran pencernaan (Halim dan Zubaidah, 2013). Probiotik dapat bertahan pada garam empedu karena memiliki enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) yang berperan dalam menghidrolisis asam empedu terkonjugasi menjadi asam empedu bebas dan asam amino glisin atau taurin sehingga menjadi tidak toksik. Asam empedu terkonjugasi bersifat toksik karena memiliki nilai pH berkisar antara 1 – 4, sedangkan asam empedu bebas memiliki nilai pH berkisar antara 5 – 6,5 sehingga lebih sesuai dengan kondisi pH saluran pencernaan manusia yang berkisar antara 3 – 5 (Begley dkk., 2006). Isolat K1-1242 memiliki ketahanan terhadap garam Oxgall 3 % sebesar 4,22 % dimana hasil ini lebih tinggi dibandingkan isolat probiotik komersial *L.casei*, yaitu 3,02 % (Halim dan Zubaidah, 2013). Isolat yang

berpotensi sebagai kandidat probiotik yang baik apabila memiliki ketahanan hidup  $\geq 50\%$  (Saskia, 2014).

### 3. Senyawa Antimikrobia

Probiotik berperan dalam meningkatkan keamanan pangan dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen karena memiliki senyawa antimikrobia, misalnya diasetil, hidrogen peroksida, asam organik, dan bakteriosin. Kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain memungkinkan bakteri untuk berkompetisi dan menjaga keseimbangan mikrobial dalam saluran pencernaan (Widodo dkk., 2018).

Mekanisme senyawa antimikrobia dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri adalah mendenaturasi protein sebagai penyusun membran sel dan melarutkan lipid sebagai penyusun dinding sel sehingga memengaruhi difusi senyawa yang dapat mengakibatkan sel mengalami lisis dan kematian (Putri dan Fibrianto, 2018). Isolat K1-1242 yang diisolasi dari sawi asin mampu menghambat pertumbuhan *S.aureus* dengan diameter 10,14 mm dan *E.coli* dengan diameter 8,73 mm (Halim dan Zubaidah, 2013).

#### D. Deskripsi *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* merupakan bakteri Gram positif, aerobik atau fakultatif anaerobik, motil, berbentuk batang, dan dapat membentuk spora. *Bacillus cereus* mampu menghancurkan sel darah merah dan menyebabkan keracunan

makanan (Dewi, 2010). *Bacillus cereus* mampu tumbuh pada suhu minimum 4 – 5 °C dan suhu maksimum 48 – 50 °C dengan suhu optimum 30 – 45 °C serta pH 4,9 – 9,3 (Parhusip, 2006). Bakteri Gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal dan mampu menahan warna dari cat kristal violet yang terserap dalam sel sehingga bakteri terlihat berwarna biru atau ungu di bawah mikroskop (Manab dkk., 2017). *Bacillus cereus* dapat tumbuh pada tanah dan air (Rajkovic dkk., 2013) serta sering ditemukan pada daging, susu, sayuran, dan ikan (Kusnadi, 2018).

#### **E. Deskripsi *Salmonella thyphimurium***

*Salmonella thyphimurium* merupakan bakteri patogen penyebab infeksi saluran pencernaan dengan ciri berbentuk batang, tidak berspora, Gram negatif, fakultatif anaerob, serta dapat memfermentasi glukosa, maltosa, manitol, dan dekstrin menjadi asam dan atau gas. *S. thyphimurium* dapat tumbuh pada suhu 25 – 37 °C dengan pH 4,5 (Keerthirathne dkk., 2016). *Salmonella* yang masuk ke dalam saluran pencernaan akan menempel dan berkembang biak pada dinding usus, kemudian masuk ke aliran darah dan menginfeksi organ lain terutama hati (Srianta dan Rinihapsari, 2003).

Sumber kontaminasi *S. thyphimurium* adalah saluran pencernaan manusia dan hewan. Mikrobia ini sering mengkontaminasi beberapa produk pangan, yaitu telur, daging, susu, produk susu, dan ikan (Akoachere dkk., 2009). Proses penanganan produk pangan juga perlu diperhatikan karena kontaminasi silang selama proses pengolahan makanan dapat menjadi sumber

kontaminasi utama (Purnawijayanti, 2001). Infeksi *Salmonella* dapat dicegah dengan memanaskan makanan pada suhu  $66^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit karena mikrobia ini tidak tahan panas (Manab dkk., 2017).

#### **F. Hipotesis**

Bakteri asam laktat yang diisolasi dari bahan pangan berpotensi sebagai probiotik.

