

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kandungan dan Syarat Mutu Santan Kelapa

Tanaman kelapa adalah tanaman tahunan dengan batang keras, tidak bercabang dan berakar serabut. Tanaman kelapa adalah jenis tanaman bernilai ekonomi tinggi dikarenakan dapat dimanfaatkan untuk apa saja pada setiap bagian tanaman (Ariyanti dan Gun, 2018). Bagian yang dimanfaatkan meliputi daun, akar, batang dan buah. Buah kelapa meliputi bagian tempurung, sabut, air kelapa dan daging. Bagian daging dari buah kelapa dapat langsung dikonsumsi, minyak goreng, dan dapat diproses menjadi santan kelapa (Suhardiono, 1993). Kedudukan taksonomi tanaman kelapa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kedudukan taksonomi tanaman kelapa

Kerajaan	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Sub divisi	Angiospermae
Kelas	Monocotyledonae
Ordo	Palmales
Famili	Palmae
Genus	Cocos
Spesies	<i>Cocos nucifera</i> , L.

(Ariyanti dan Gun, 2018).

Santan kelapa merupakan cairan berwarna putih hasil perasan daging kelapa berwarna putih yang diparut dengan penambahan air (Srihari dkk., 2010). Santan kelapa memiliki kandungan lemak minimal 38% dan protein minimal 3,5% (Seow dan Gwee, 1997). Santan tidak memiliki kandungan laktosa sehingga penderita *lactose intolerant* dapat mengkonsumsi, kandungan protein santan tidak berpotensi menyebabkan alergi yang lebih tinggi, dan jenis lemak santan yaitu lemak nabati serta tidak mengandung kolesterol (Gea dkk., 2016). Berdasarkan

tingkat kematangan buah kelapa, santan memiliki kandungan yang berbeda seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan santan berdasarkan tingkat kematangan

Analisis Kimia	Buah		
	Muda	Setengah Matang	Tua
Kalori (Kal)	68	180	359
Protein (g)	1	4	3,4
Lemak (g)	0,9	13	34,7
Karbohidrat (g)	14	10	14
Kalsium (mg)	17	8	21
Fosfor (mg)	30	35	21
Besi (mg)	1	1,3	2
Vitamin A (IU)	0	10	0
Thiamin (mg)	0	0,5	0,1
Asam Askorbat (mg)	4	4	2
Air (g)	83,3	70	46,9

(Sumber : Ketaren, 1996)

Santan juga kaya akan kandungan protein seperti albumin, globulin, prolamin, dan glutein. Selain itu, santan juga memiliki kandungan fosfolipid, cephalin dan lesitin yang berfungsi dalam meningkatkan dispersibilitas dan sebagai *emulsifying agents* atau stabilitas emulsi makanan (Hagenmaier, 1980). Santan kelapa memiliki persyaratan mutu menurut SNI 1-3816-1995 dan Codex (2003) yang dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Persyaratan mutu santan SNI 1-3816-1995

Parameter	Satuan	Persyaratan
Rasa	-	Normal
Bau	-	Normal
Warna	-	Normal
Air	% b/b	Maks 50
Protein	% b/b	Min 30
Lemak	mg/kg	Min 30
Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0,1
Tembaga	mg/kg	Maks 0,1
Seng	mg/kg	Maks 40
Timah	mg/kg	Maks 40
Merkuri	mg/kg	Maks 0,05

Lanjutan Tabel 3. Persyaratan mutu santan SNI 1-3816-1995

Arsen	mg/kg	Maks 1,0
Angka Lempeng Total	koloni/g	Maks 10^5
MPN	APB/bl	Maks 1×10
<i>Escherichia coli</i>	APB/bl	< 3
<i>Enterococci</i>	koloni/g	Maks 1×10^2
<i>Salmonella</i>		Negatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	koloni/g	Maks 10^2

(Badan Standarisasi Nasional Indonesia, 1995).

Tabel 4. Standar Codex Santan Kelapa

Parameter	Satuan	Komposisi
Total Padatan	% b/b	12,7-25,3
Total Padatan Bukan Lemak	% b/b	Minimal 2,7
Kadar Air	% b/b	Maksimal 87,3
Ph		Minimal 5,9
Lemak	% b/b	Minimal 10

(Codex, 2003)

B. Kerusakan Santan Kelapa

Santan kelapa adalah salah satu jenis bahan pangan yang memiliki umur simpan yang pendek. Berdasarkan penelitian Kajs dkk. (1976), hasil TPC (*Total Plate Count*) santan segar mencapai batas yaitu sebesar $1,2 \times 10^6$ - $1,7 \times 10^8$ CFU/mL pada penyimpanan 35°C dan dalam waktu 8 jam sehingga menyebabkan kerusakan organoleptik pada santan. Kerusakan santan dapat disebabkan oleh adanya cahaya, oksigen, dan temperatur yang tinggi. Selain itu, kerusakan santan juga dapat disebabkan oleh adanya kandungan nutrisi santan seperti air, lemak dan protein yang cukup tinggi sehingga dimanfaatkan mikroorganisme pembusuk untuk tumbuh dengan mudah dan menyebabkan santan mengalami perubahan mutu (Rosida dkk., 2013).

Perubahan yang sering dijumpai pada kerusakan mutu santan yaitu emulsi santan pecah, perubahan kekentalan, warna menjadi lebih gelap atau agak kecoklatan dan aroma tengik (Satoto, 1999; Siagian, 2002). Emulsi adalah

suspensi cairan yang berada dalam suspensi cairan lainnya namun tidak menjadi satu campuran, misalnya air dan minyak. Emulsi terbagi ke dalam dua tipe yaitu *water in oil* (w/o) dan *oil in water* (o/w). Emulsi *water in oil* merupakan emulsi yang mengandung fase luar seperti minyak dan fase dalam seperti air. Emulsi *oil in water* merupakan emulsi yang memiliki fase terdispersi seperti minyak dan fase pendispersi seperti air. Santan kelapa memiliki bentuk emulsi *oil in water* (o/w) dan pecahnya emulsi pada santan dapat disebabkan oleh protein dan beberapa jenis ion terabsorpsi pada permukaan minyak (Clemente dan Villacorte, 1933).

Terjadinya perubahan kekentalan dapat disebabkan adanya penggumpalan protein dan pemisahan serum atau skim (Siagian, 2002). Aroma tengik pada santan menunjukkan adanya perubahan bau dan *flavor* akibat dari adanya autooksidasi radikal asam lemak tidak jenuh (Winarno, 1986). Selain itu, aroma tengik juga dapat disebabkan oleh aktivitas mikrobia yang mengakibatkan terjadinya kerusakan lemak dan adanya diproduksinya asam lemak bebas serta dihasilkan keton penyebab ketengikan (Suharyono dkk., 2009).

Mikrobia yang menyebabkan aroma tengik santan yaitu mikroba lipolitik seperti *Pseudomonas fragii* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Pseudomonas* adalah mikrobia yang dapat menyebabkan kerusakan pada bahan pangan dan memiliki kemampuan untuk memproduksi salah satu enzim seperti lipase yang mampu memecah lemak maupun protein, contohnya yaitu *P. flurescens* dan *P. cocovenenans*. Mikrobia *P. cocovenenans* aktif untuk menghidrolisis atau memecah gliserida minyak kelapa menjadi gliserol dan asam lemak (Suharyono dkk., 2009).

C. Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat sebagai Agen Biopreservatif

Biopreservatif merupakan pengawet bahan pangan secara alami yang berupa zat metabolit sekunder tidak berbahaya dan mampu menghambat bakteri lain serta berasal dari mikrobial seperti bakteri asam laktat (Theron dan Lues, 2011). Bakteri asam laktat (BAL) adalah mikroorganisme yang mampu melakukan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen secara alami sehingga kualitas dan keamanan pangan meningkat (Daeschel, 1989). Bakteri asam laktat banyak terdapat dalam makanan seperti fermentasi, buah, sayuran dan produk daging (Rahayu dkk., 1995).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk *coccus* atau *rod*, mikroaerophilic (membutuhkan sedikit oksigen), dapat bersifat homofermentatif maupun heterofermentatif, tidak berspora dan non motil (Caplice dan Fitzgerald, 1999; Tadasse dkk., 2005). Bakteri asam laktat mampu mengkonversi gula menjadi asam laktat dan asetat sehingga terjadi penurunan pH (Rahayu dan Sudarmadji, 1989). Bakteri asam laktat bereaksi negatif dengan H₂O₂ karena tidak mampu memproduksi enzim katalase sehingga tidak dapat membentuk air dan oksigen (Tadasse dkk., 2005).

Bakteri asam laktat memiliki keuntungan yaitu sifatnya tidak toksik yang biasa dapat disebut dengan GRAS atau *Generally Recognized As Safe* yang memiliki arti mikroorganisme aman dan bermanfaat untuk kesehatan (Daeschel, 1989). Oleh sebab itu, BAL memiliki peran penting sebagai fermentasi dan pengawet makanan secara alami (Cintas dkk., 2001). Manfaat BAL dalam mengawetkan makanan ini dikarenakan mampu menghasilkan asam organik, pH

rendah dan senyawa yang memiliki kemampuan dalam menghambat mikrobia patogen, seperti H₂O₂, CO₂, d-isomer asam amino, diasetil, asetaldehid dan bakteriosin (Kusmiati dan Malik, 2002).

Bakteriosin adalah senyawa protein yang dihasilkan dari BAL di dalam ribosom, mudah di degradasi oleh enzim proteolitik pencernaan baik manusia maupun hewan dan memiliki aktivitas antimikrobia baik bakterisidal dan bakteriostatik (Gautam dan Sharma, 2009). Bakteriosin efektif dalam mencegah bakteri penghasil spora, *food borne pathogens* dan bakteri Gram positif. Bakteriosin mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *B. strearothermophilus*, *B. subtilis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Micrococcus luteus* dan *Listeria denitrificans* (Mahaputra dkk., 2005). Menurut Claveland dkk. (2001), bakteriosin memiliki keuntungan sebagai agen biopreservatif pada makanan, yaitu sebagai berikut :

1. Mampu didegradasi oleh enzim proteolitik dengan mudah karena protein.
2. Mampu dicerna dengan mudah oleh enzim yang terdapat di saluran pencernaan sehingga membahayakan mikroflora usus.
3. Mengurangi bahan pengawet kimia dan penggunaannya fleksibel.
4. Stabil pada suhu dan pH yang cukup luas sehingga dapat tahan terhadap pengolahan yang melibatkan suhu panas atau dingin serta asam atau basa.

Bakteriosin memiliki kurva pertumbuhan yang terdiri dari fase lag, log atau eksponensial dan stasioner. Pertumbuhan pada fase lag terjadi adaptasi pada

lingkungan meliputi suhu, pH dan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri sangat lambat. Pertumbuhan pada fase log atau eksponensial terjadi pertumbuhan yang cepat dengan cara memperbanyak diri (Fardiaz, 1992).

Pertumbuhan pada fase stasioner terjadi penipisan nutrisi medium sehingga jumlah bakteri menurun akibat banyaknya bakteri yang mati karena terjadi lisis (Fardiaz, 1992). Pertumbuhan pada fase eksponensial merupakan fase optimum untuk memproduksi bakteriosin karena terjadi peningkatan jumlah *biomassa* dan akan mengalami penurunan ketika memasuki fase stasioner (Ougunbanwo dkk., 2003). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas dalam memproduksi bakteriosin, yaitu sebagai berikut :

1. Derajat Keasaman (pH)

Kondisi pH optimum dalam memproduksi bakteriosin secara maksimal yaitu pH 6,0-7,0 (Gautam dan Sharma, 2009). Apabila pH semakin rendah maka banyak H^+ terbebas dan apabila pH semakin tinggi maka akan semakin banyak OH^- yang terbebas serta akan menempel ke membran sehingga mampu mempengaruhi sisi aktif enzim dan permeabilitas membran dapat terganggu (Salmien dkk., 2004).

2. Suhu

Suhu optimum pertumbuhan bakteriosin yaitu 30 °C (Gautam dan Sharma, 2009). Suhu dapat memengaruhi produksi bakteriosin karena apabila suhu semakin meningkat atau mencapai batas suhu optimum maka pertumbuhan bakteriosin akan semakin meningkat dan

diikuti waktu inkubasi yang meningkat. Namun, apabila suhu telah mencapai batas optimum pertumbuhan maka akan membunuh BAL yang berperan untuk memproduksi bakteriosin (Jaya, 2004).

3. Sumber karbon

Sumber karbon berfungsi sebagai penyedia energi dan cadangan makanan supaya dapat tumbuh dan berkembang biak. Jenis dan jumlah karbon dapat memengaruhi sintesis metabolit sekunder untuk mempertahankan diri (Griffin, 1991). Menurut penelitian Kusmiati dan Malik (2002), medium *De Man Rogosa and Sharpe* adalah media terbaik untuk memproduksi bakteriosin *L. plantarum*. Hal ini dikarenakan medium MRS memiliki glukosa yang berperan sebagai sumber karbon. Glukosa termasuk dalam kelompok monosakarida yang menghasilkan asam laktat pada jalur glikolisis sehingga pH rendah dan pertumbuhan bakteri lain terhambat (Daeschel, 1989).

4. Fase pertumbuhan

Fase pertumbuhan optimum untuk bakteriosin yaitu fase eksponensial hingga mencapai fase stasioner (Fardiaz, 1992). Apabila waktu inkubasi semakin panjang hingga fase stasioner maka dapat menurunkan aktivitas bakteriosin karena enzim protease yang dibebaskan oleh sel pada saat sel memasuki fase stasioner dapat memecah bakteriosin yang merupakan senyawa protein (Nurhajati dkk., 2012).

Menurut Ouwehand dan Vesterlund (2004), bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dikelompokkan ke dalam beberapa kelas yaitu sebagai berikut:

- a. Kelas I : peptida kecil (<5 kDa), mengandung asam amino yang tidak ada di alam, seperti *β-metil lantionin* dan lantionin, tetapi disintesis pasca translasi dengan modifikasi.
- b. Kelas II : protein kecil (<10 kDa), stabil terhadap panas, peptida yang aktif terhadap membran dan tidak mengandung lantionin. Bakteriosin kelas II ini terbagi menjadi 3 sub kelas, yaitu Kelas IIa merupakan kelompok terbesar yang memiliki peptida *listeria-active* dengan sekelompok sekuen amino-terminal; kelas IIb memiliki 2 peptida dan kelas IIc merupakan bakteriosin yang teraktivasi-tiol.
- c. Kelas III : ukuran besar (<30 kDa) serta tidak tahan terhadap panas. Hanya sedikit bakteri yang berasal dari kelompok ini, yang telah terisolasi hanya bakteri yang berasal dari genus *Lactobacillus*.
- d. Kelas IV : bakteriosin yang informasinya sangat terbatas dan merupakan kompleks lipida atau karbohidrat.

Mekanisme yang dilakukan oleh bakteriosin untuk menghambat pertumbuhan mikrobia bahkan menyebabkan kematian sel yaitu molekul bakteriosin akan melakukan kontak langsung dengan membran sel, adanya kontak langsung dapat mengganggu potensial membran sehingga membran sel menjadi tidak stabil dan tidak kuat, adanya gangguan berupa ketidakstabilan pada membran sel dapat membentuk lubang atau pori pada membran sel sehingga dapat

mengganggu *Proton Motive Force* (PMF) (Gonzalez dkk., 1996). Terbentuknya lubang atau pori menyebabkan kebocoran pada membran sel sehingga molekul-molekul interseluler dapat keluar dan molekul ekstraseluler dapat masuk ke dalam sel yang akan berdampak pada penurunan pH seluler. Peristiwa tersebut dapat menekan pertumbuhan sehingga terjadi kematian bakteri patogen (Drider dkk., 2006). Adanya aktivitas bakteriosin juga mengakibatkan penurunan PMF sel target bakteri sehingga menyebabkan kematian akibat terhentinya pembentukan energi (Neetles dan Barefoot, 1993).

D. Karakteristik *L. plantarum*

L. plantarum termasuk BAL Gram positif, homofermentatif, berbentuk batang, tidak berspora, non motil, optimal pada suhu 30-40°C (Pelczar dan Chan, 2008). *L. plantarum* memiliki sifat aerob atau aerob fakultatif, katalase negatif, mampu memecah protein dengan cepat, tidak dapat mereduksi nitrat, tahan asam, dan dapat menghasilkan asam laktat. *L. plantarum* mampu membentuk koloni dengan ukuran 2-3 mm, berwarna putih opaque, convex pada media agar (Kuswanto dan Sudarmadji, 1988). Menurut Nur dkk. (2015), diperoleh ciri-ciri koloni *L. plantarum* yaitu berukuran kecil, bulat, berwarna putih susu, elevasi cembung, tepi rata, permukaan berkilau.

L. plantarum mampu menghasilkan asam laktat dengan pH rendah, sehingga terbentuk kondisi yang asam. Bakteri *L. plantarum* mampu menghambat bakteri pembusuk dan patogen dalam suasana asam. Selain itu, bakteri *L. plantarum* mampu menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai zat antibakteri (Kuswanto dan Sudarmadji, 1988).

E. Mikroenkapsulasi dan Metode *Spray Drying*

Mikroenkapsulasi adalah proses untuk melapisi bahan aktif menggunakan bahan pengkapsul yang berfungsi sebagai dinding pembungkus untuk melindungi bahan sehingga kualitas dari suatu bahan tidak turun (Rosenberg dkk., 1990). Mikroenkapsulasi pada bidang pangan memiliki fungsi untuk mempertahankan kualitas dari bahan pangan seperti lipid, vitamin, *flavour*, asam, enzim dan bahan pengembang (Risch, 1995).

Beberapa keuntungan proses mikroenkapsulasi yaitu perubahan destruktif atau penguapan pada *flavour* bahan makanan terlindungi selama penyimpanan, tahap pengolahan lanjut dan dalam pencampuran produk cukup mudah, kadar air rendah, terlindungi dari mikroorganisme serta serangga (Koswara, 1995). Menurut Bakan (1973), faktor yang memengaruhi keberhasilan dari proses mikroenkapsulasi dan sifat dari mikrokapsul hasil bahan pengkapsul, wujud bahan yang disalut (padat atau cair), prinsip mikroenkapsulasi secara kimia atau fisika, tahapan mikroenkapsulasi dan struktur dinding mikrokapsul. Secara umum proses mikroenkapsulasi terdiri dari 3 tahap yaitu :

- a. Fase pembawa air, material inti dan fase pengkapsul belum tercampur.
- b. Penempelan bahan pengkapsul di permukaan bahan inti.
- c. Pemadatan pelapis untuk membentuk mikroenkapsul akibat suhu tinggi.

Proses mikroenkapsulasi banyak dilakukan dengan metode *spray drying*. *Spray drying* adalah proses yang dapat mengubah bentuk cair menjadi bentuk kering atau serbuk secara kontinyu (Dubey, dkk. 2009). Keuntungan penggunaan metode *spray drying* yaitu peralatan sederhana, murah, pilihan bahan pengkapsul

luas, memiliki kemampuan dalam menjaga bahan yang bersifat volatil dan kestabilan rasa (Reineccius, 1988). Selain itu, metode *spray drying* juga memiliki keuntungan lainnya yaitu pengaplikasian mudah, dapat memproduksi mikrokapsul dengan jumlah banyak, bahan pengkapsul cocok untuk bahan makanan dan larut dalam air sehingga bahan inti dapat terlepas tanpa endapan (Thies, 1996).

Tahapan dari metode *spray drying* meliputi persiapan bahan emulsi, pencampuran bahan atau homogenisasi dan penyemprotan emulsi atau atomisasi pada *chamber*. Tahap pembentukan emulsi dari bahan inti, emulsi dipreparasi dengan mendispersikan bahan inti yang diikuti homogenisasi. Hasil emulsi selanjutnya diatomisasi dalam udara panas yang dihembuskan menuju *drying chamber* dan penguapan air yang berfungsi untuk pembentukan mikrokapsul (Dziezak, 1988).

Proses atomisasi berfungsi untuk pembentukan hasil semprotan yang halus sehingga transfer panas optimal. Kontak dari partikel atomisasi dengan udara pengering merupakan proses pengeringan yang terjadi pada suhu 150-220°C. Penguapan air dari bahan terjadi cepat selama 5 detik (Corrigan, 1995).

Pembuatan mikroenkapsulat digunakan suhu inlet 140-180°C, suhu outlet 80-120°C dan kecepatan alir bahan cair yaitu 10-12 mL/min (Elisabeth dkk., 2007). Suhu inlet dan outlet yang rendah mengakibatkan kurangnya difusitas dan kekentalan pada saat proses pengeringan (Onwulata, 2005). Adanya kecepatan penguapan dapat dipengaruhi oleh total padatan, suhu bahan, suhu inlet dan suhu outlet. Semakin tinggi suhu inlet maka jumlah panas untuk penguapan bahan semakin sedikit sehingga kecepatan penguapan meningkat (Masters, 1979).

F. Maltodekstrin dan susu skim sebagai bahan pengkapsul

Maltodekstrin adalah hidrolisat pati atau polisakarida yang memiliki rantai 5-10 unit/molekul glukosa (Kennedy, dkk. 1995). Maltodekstrin memiliki sifat non higroskopis, larut sempurna dalam air dingin, *flavour* dan rasa manis rendah, mudah didapatkan serta biaya terjangkau (Kenyon dan Anderson 1988). Oleh karena viskositas maltodekstrin rendah dan mampu membentuk emulsi dengan baik, maltodekstrin sering berfungsi untuk bahan penyalut yang baik dan lebih menguntungkan pada saat proses enkapsulasi menggunakan *spray dryer* (Kenyon, 1995). Maltodekstrin juga menghambat reaksi oksidasi sehingga menghasilkan mikrokapsul dapat disimpan lebih lama (Gharsallaoui dkk., 2007).

Susu skim adalah emulator serbuk hasil dari proses pengeringan dan pasteurisasi sehingga kandungan air minimal dan masa simpan panjang ± 3 tahun. Susu skim memiliki kandungan protein susu, laktosa dan mineral (Yulinery, dkk. 2006). Kandungan gula yaitu laktosa pada susu skim relatif tinggi yaitu 49,5-52 % (Livney, 2010).

Protein dari susu sangat baik digunakan sebagai bahan pengkapsul karena pada keadaan yang sesuai dapat membentuk gel. Bahan pengkapsul tersebut berperan untuk melindungi sel yang telah dienkapsulasi dan sebagai sumber dari nutrisi sel. Protein susu sering digunakan sebagai bahan enkapsulasi berdasarkan sifat fisik dan kimia yang biokompatibel (Livney, 2010). Penelitian Fu dan Chen (2011), menyatakan bahwa susu skim sebagai bahan pengkapsul mampu melindungi bahan yang telah dikapsul sehingga bakteriosin memiliki aktivitas hambat yang lebih optimum.

G. Hipotesis Penelitian

1. Serbuk bakteriosin *L. plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Serbuk bakteriosin *L. plantarum* mampu berperan sebagai agen biopreservatif dan memperpanjang masa simpan santan kelapa (*Cocus nucifera* L.).
3. Serbuk bakteriosin *L. plantarum* berpengaruh terhadap kualitas santan kelapa (*Cocus nucifera* L.)
4. Serbuk bakteriosin *L. plantarum* 5% merupakan konsentrasi paling optimal untuk mempertahankan kualitas santan kelapa (*Cocus nucifera* L.).