

2015



Universitas
Kanjuruhan
Malang

1

UNIVERSITAS
KANJURUHAN
MALANG

PERMATA
IKA
HIDAYATI



[PENGAWETAN DAGING MELALUI PERPADUAN FERMENTASI ENSILING DAUN SELADA DAN BIJI KEPAYANG]

UNIVERSITAS KANJURUHAN MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN		i
SAMPUL.....		ii
HALAMAN		ii
PENGESAHAN.....		iii
RINGKASAN.....		iii
.....		
PRAKATA.....		iv
...		v
DAFTAR ISI		
.....		
DAFTAR		vi
TABEL.....		vii
DAFTAR		vii
GAMBAR.....		vii
DAFTAR		vii
LAMPIRAN.....		i
BAB I.		6
PENDAHULUAN.....		9
BAB II. TINJAUAN		9
PUSTAKA.....		
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT		13
PENELITIAN.....		
BAB IV. METODE		14
PENELITIAN.....		
BAB V. HASIL DAN		16
PEMBAHASAN.....		
BAB VI. KESIMPULAN DAN		57
SARAN.....		
DAFTAR		59
PUSTAKA.....		

BAB I

BIOTEKNOLOGI FERMENTASI

KOMPETENSI DASAR:

Mahasiswa Mampu dan Memahami Tentang Bioteknologi Fermentasi

A. Pengertian Fermentasi

Pengolahan dan pengawetan makanan atau minuman dengan menggunakan mikroba bertujuan agar zat makanan tidak lekas busuk (rusak), selain itu, juga memiliki rasa dan bau yang enak (khas) serta kandungan gizi yang kaya dan lengkap. Beberapa produk makanan dan minuman hasil fermentasi antara lain: daging awetan, bekasam, kepayang fermentasi, fermentasi ensiling selada, bir, yoghurt, keju, cuka, sirkol, acar, sosis, kecap, tempe, tape, oncom, dsb.

Fermentasi merupakan suatu cara yang telah dikenal dan digunakan sejak lama sejak jaman kuno. Fermentasi merupakan suatu cara untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu yang dikehendaki dengan menggunakan bantuan mikroba. Bioteknologi berbasis fermentasi sebagian besar merupakan proses produksi barang dan jasa dengan menerapkan teknologi fermentasi atau yang menggunakan mikroorganisme untuk memproduksi makanan dan minuman. Produk-produk tersebut biasanya dimanfaatkan sebagai minuman atau makanan. Bioteknologi fermentasi, teknologi fermentasi merupakan teknologi yang menggunakan mikroba untuk memproduksi makanan dan minuman.

B. Sejarah Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu cara yang telah dikenal dan digunakan sejak lama sejak jaman kuno.

 6000-4000 SM: teknologi fermentasi pembuatan bir di Sumeria dan Mesir

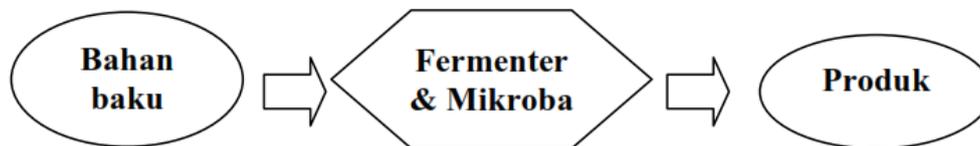
- ✚ Abad ke-14: distilasi untuk menghasilkan minuman beralkohol tinggi di Cina
- ✚ Sebelum 1865 : teknologi pembuatan bir, anggur, keju, yogurt, dan makanan lainnya sebagai hasil dari proses fermentasi (era pra-Pasteur)
- ✚ 1865-1940: teknologi pembuatan etanol, butanol, aseton, gliserol, asam-asam organik (era Pasteur).

Fermentasi dapat dibedakan menjadi:

- (1) fermentasi aerob jika memerlukan oksigen mengubah substrat gula menjadi dan hasil akhirnya asam piruvat dan karbondioksida (CO₂), dan
- (2) fermentasi anaerob jika tidak memerlukan oksigen, gula akan diubah menjadi asam piruvat, kemudian asetaldehida dan akhirnya menjadi alkohol; etanol atau methanol dan asam laktat.

Sebagai suatu proses fermentasi memerlukan:

1. Mikroba sebagai inokulum (starter).
2. Tempat (wadah) untuk menjamin proses fermentasi berlangsung dengan optimal.
3. Substrat sebagai tempat tumbuh (medium) dan sumber nutrisi bagi mikroba.
4. Produk, sesuatu yang dihasilkan dari proses fermentasi.



Gambar 1: Skema Proses Fermentasi

Fermentasi sebagai suatu proses memerlukan:

1. Prinsip-prinsip Fermentasi

Hal-hal yang perlu diperhatikan agar fermentasi dapat berjalan dengan optimal, maka harus memperhatikan faktor-faktor berikut ini:

1. Aseptis: terbebas dari kontaminan
2. Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
3. Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar
4. Kondisi lingkungan seperti: suhu, pH harus terkontrol.
5. Komposisi medium pertumbuhan harus mencukupi kebutuhan mikroba.
6. Penyiapan inokulum harus murni.

7. Sifat fermentasi
8. Prinsip kultivasi mikroba dalam sistem cair
9. Desain bioreaktor (fermenter)
10. Desain medium
11. Instrumentasi dan pengendalian proses dalam bioreaktor
12. Teknik pengukuran
13. Pemindahan massa dan energi
14. Peningkatan skala
15. Fermentasi substrat padat
16. Kultur biakan murni (isolat)
17. Tahap produksi akhir.

3. Sifat Fermentasi

1. Aerob memerlukan adanya oksigen.
2. Anaerob tidak memerlukan adanya oksigen.

4. Desain fermenter (bioreaktor)

Istilah fermenter (bioreaktor) digunakan untuk tempat berlangsungnya proses fermentasi. Pada prinsipnya fermenter harus menjamin pertumbuhan mikroba dan produk dari mikroba di dalam fermenter. Semua bagian di dalam fermenter pada kondisi yang sama dan semua nutrisi termasuk oksigen harus tersedia merata pada setiap bagian dalam fermenter dan produk limbah seperti; panas, CO₂, dan metabolit harus dapat dikeluarkan (*remove*). Fermenter sebagai wadah harus dapat memberdaging kondisi lingkungan fisik yang cocok bagi katalis sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan substrat. Oleh karena itu, wadah perlu didesain sedemikian rupa sehingga proses dalam wadah dapat dimonitor dan dikontrol.

Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata. Oleh karena itu, wadah perlu didesain sedemikian rupa sehingga proses dalam wadah dapat dimonitor dan dikontrol. Fermenter memberdaging kondisi lingkungan fisik yang cocok bagi katalis sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan substrat. Desain fermenter mulai dari yang sederhana (tangki dengan putaran) sampai yang *integrated system* dengan komputer.

5. Teknologi medium

Medium sebagai tempat tumbuh dan berkembang harus menjamin ketersediaan dan kebutuhan mikroba untuk hidup dan tumbuh berkembang. Medium biasa disebut

substrat. Medium harus mengandung nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan mikroba. Mikroba berada dalam medium yang mengandung nutrisi sebagai substrat untuk tumbuh dan berkembang bercampur dengan produk-produk yang dihasilkan termasuk limbah. Medium kebanyakan berasal dari tumbuhan dan sedikit dari produk hewani. Sebagai contoh; biji-bijian (*grain*), susu (*milk*). *Natural raw material* berasal dari hasil pertanian dan hutan. Karbohidrat; gula, pati (tepung), selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Berdasarkan bentuknya substrat dapat dibedakan menjadi: (1) Substrat cair sebagai contoh air untuk pembuatan anggur. (2) Substrat semi cair sebagai contoh media untuk pembuatan yoghurt. (3) Substrat padat sebagai contoh media yang digunakan untuk produksi tempe, oncom, kecap, kompos dsb. *Solid substrate fermentation* (SSF), melibatkan jamur berfilamen, yeast atau *Streptomyces*.

6. Inokulum

Inokulum adalah agen hayati (*living thing*) meliputi organisme dan komponen subselelurnya. Mikroba memiliki sifat khas sehingga dapat digunakan sebagai agen untuk memproduksi bahan-bahan kimia yang diperlukan oleh manusia. Mikroba memiliki kemampuan mensintesis berbagai senyawa di alam dan juga dapat menghasilkan berbagai jenis enzim yang dapat dimanfaatkan dalam industri pengolahan makanan, bahan kimia, dan/atau bahan farmasi. Enzim yang dihasilkan merupakan katalisator yang mendorong terjadinya proses sintesis dan perombakan bahan baku.

Mikroba industri merupakan kunci kegagalan atau keberhasilan suatu fermentasi atau kultivasi. Kriteria Mikroba Industri:

- Merupakan galur murni
 - Sifat genetiknya stabil
 - Dapat menghasilkan sel vegetatif, spora atau unit-unit reproduktif lain
 - Mampu tumbuh dengan cepat setelah diinokulasi
 - Mampu menghasilkan produk yang diinginkan dalam waktu yang pendek & tidak menghasilkan produk sampingan yang toksik
 - Mampu melindungi diri dari kontaminasi (pH, suhu, inhibitor)
 - Dapat disimpan dalam jangka waktu yang panjang
 - Galur dapat dikembangkan kualitasnya, sehingga produksinya meningkat
- Mikrobia yang umumnya terlibat dalam fermentasi adalah bakteri, khamir, dan kapang
- Bakteri *Acetobacter xylinum* pada pembuatan nata decoco
 - Khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan alkohol

- Kapang *Rhizopus* sp pada pembuatan tempe

Mikroba dapat digolongkan menjadi: (1) kelompok bakteri: *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp. *Eschericia* sp. (2) kelompok jamur: *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. (3) kelompok khamir (yeast): *Saccharomyces* sp.

Tabel 1. Berbagai Jenis Inokulum dan Produknya

Jenis	Inokulum	Substrat	Produk
Jamur	<i>Rhizopus oligoporus</i>	Kedele Ampas kacang	Tempe, Oncom
	<i>Aspergillus wentii</i>	Kedele	Kecap
	<i>Neurospora crassa</i>	Bungkil kacang tanah	Oncom
Khamir (Yeast)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bahan roti, tetes tebu	Roti
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bahan dasar karbohidrat: beras, ketan, ketela	Tape
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Air anggur, bir, brem	anggur, bir, brem
Bakteri	<i>Acetobacter xylinum</i>	Air kelapa	Nata de coco
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Air susu	Yoghurt
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	sayuran	Keju
	<i>Lactobacillus sp</i>		Larutan pengawet ensiling

RANGKUMAN

1. Pengolahan dan pengawetan makanan atau minuman dengan menggunakan mikroba bertujuan agar zat makanan tidak lekas busuk (rusak), selain itu, juga memiliki rasa dan bau yang enak (khas) serta kandungan gizi yang kaya dan lengkap.
2. Fermentasi dapat dibedakan menjadi:
 - (1) fermentasi aerob jika memerlukan oksigen mengubah substrat gula menjadi dan hasil akhirnya asam piruvat dan karbondioksida (CO₂), dan
 - (2) fermentasi anaerob jika tidak memerlukan oksigen, gula akan diubah menjadi asam piruvat, kemudian asetaldehida dan akhirnya menjadi alkohol; etanol atau methanol dan asam laktat.
3. Sebagai suatu proses fermentasi memerlukan:
 - a. Mikroba sebagai inokulum (starter).
 - b. Tempat (wadah) untuk menjamin proses fermentasi berlangsung dengan optimal.
 - c. Substrat sebagai tempat tumbuh (medium) dan sumber nutrisi bagi mikroba.

d. Produk, sesuatu yang dihasilkan dari proses fermentasi.

LATIHAN SOAL

1. Apa tujuan dilakukan pengolahan dan pengawetan pada makanan dan minuman?
2. Hal-hal apa saja yang diperlukan dalam setiap proses perlakuan fermentasi?
3. Tuliskan macam-macam dari fermentasi!

BAB 2

APLIKASI INDUSTRI BIOTEKNOLOGI FERMENTASI

KOMPETENSI DASAR:

Mahasiswa Mampu dan Memahami Tentang Aplikasi Industri Bioteknologi Fermentasi

A. Produk-Produk Aplikasi Industri Bioteknologi Fermentasi

Dalam dimensi baru teknologi fermentasi mikroba berperan untuk menghasilkan:

1. Bir, minuman beralkohol. Sari buah, atau gula diiberi *Saccharomyces cerevisiae* kemudian diinkubasikan akan didapatkan minuman beralkohol.
2. Yoghurt, diproduksi dengan cara memfermentasi air susu dengan bakteri bukan khamir. Biasanya menggunakan campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Pada pembuatan yoghurt air susu dipasteurisasi pada suhu 73⁰C selama 15 detik. Kemudian ditambahkan kultur starter bakteri. Fermentasi pada suhu 40⁰C selama 2,5 -3,5 jam sampai susu menggumpal, dan asam laktat dihasilkan. Bakteri mengubah gula susu (laktosa) pada kondisi anaerobic. Lactose diubah menjadi asam laktat yang bersifat menggumpalkan casein (protein susu). Dihasilkan krem yoghurt tebal dengan rasa sedikit asam. Yoghurt sebaiknya disimpan pada suhu 4⁰C untuk mengurangi aktivitas mikroba.
3. Keju, berbagai jenis bakteri dapat digunakan untuk memfermentasi susu menjadi keju, tergantung jenis keju yang dihasilkan. Biasanya digunakan spesies *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Enzim yang diperlukan untuk menghasilkan keju adalah *rennet* yang mengandung chymosin yang bersifat menggumpalkan casein.

4. VCO, santan kelapa bagian kanil (lapisan atas) diberikan inokulum dieramkan beberapa hari kemudian didapatkan minyak kelapa murni (VCO) yang memiliki khasiat sebagai obat.
5. Nata de coco (air kelapa), Nata de pina (nanas), nata de soya (limbah tahu). *Acetobater xylinum* ditumbuhkan pada substrat gual yang diberi air kelapa dieramkan beberapa hari didapatkan nata de coco. Yang kaya serat dan baik untuk sumber makanan berserat tinggi.
6. Protein sel tunggal. Biomassa (*single cell protein*). Mikroorganisme selain berperan dalam fermentasi juga sebagai penghasil protein yang disebut *single cell protein* (SCP). SCP selain mengandung protein juga mengandung karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral. Untuk memenuhi kebutuhan pangan terutama sumber protein yang semakin meningkat sejalan dengan pertumbuhan jumlah penduduk diperlukan langkah bioteknologi untuk memproduksi protein dalam kuantitas cukup dan kualitas baik. Mengapa mikroorganisme karena pertumbuhannya cepat yaitu 20 – 120 menit (bakteri), algae (2 – 6 jam). Sedangkan ayam (3–4 minggu). Hal-hal yang mesti diperhatikan dalam pemanfaatan mikroorganisme sebagai penghasil protein antara lain: keamanan, nilai nutrisi, dan penerimaan masyarakat. Kelebihan mikroorganisme untuk produksi SCP antara lain: pertumbuhan cepat, mudah dimodifikasi secara genetik, mengandung protein relatif tinggi, memerlukan ruang yang relatif sempit, dan dapat tumbuh pada berbagai substrat (*raw material*).
7. Produksi antibiotik. Streptomycin oleh streptomycetes, penisilin oleh penicilium notatum.
8. Produksi bahan pengawet untuk mengawetkan daging, dan bahan mentah lainnya.

B. Reaksi Fermentasi Multifase

1. Fase gas (mengandung N₂, O₂ dan CO₂)
2. Fase cair (medium cair dan substrat cair), dan
3. Fase padat.

C. Prinsip Kultivasi Mikroba Dalam Sistem Cair

Medium sebagai tempat tumbuh dan berkembang harus menjamin ketersediaan dan kebutuhan sel untuk hidup dan tumbuh berkembang. Medium mengandung nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan sel. Mikroba berada dalam cairan yang mengandung nutrisi sebagai substrat untuk tumbuh dan berkembang bercampur dengan produk-produk yang dihasilkan termasuk limbah. Nutrisi dan oksigen yang

diperlukan untuk pertumbuhan optimal mikroba harus tercampur merata (homogen) pada semua bagian fermenter. Mikroba berada dalam cairan yang mengandung nutrisi sebagai substrat untuk tumbuh dan berkembang bercampur dengan produk-produk yang dihasilkan termasuk limbah. Nutrien dan oksigen yang diperlukan untuk pertumbuhan optimal mikroba harus tercampur merata (homogen) pada semua bagian fermenter. Untuk mendapatkan sistem fermentasi yang optimum, maka fermenter harus memenuhi syarat sebagai berikut:

- Bebas dari kontaminan
- Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
- Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar
- Kondisi lingkungan seperti: suhu, pH harus terkontrol. *Stirred tank reactor*

system model yang banyak dipakai.

D. Sistem fermenter tertutup dan terbuka

1. Tertutup, semua nutrisi ditambahkan pada awal fermentasi dan pada akhir fermentasi dikeluarkan bersama produknya. Sebagai contoh: pembuatan bir (*brewing*), antibiotik, dan enzim. *All in all out*.
2. Terbuka (kontinu), jika seluruh komponen system seperti mikroorganisme dan nutrisi secara terus menerus terjadi pemasukan medium kultur dan pengeluaran biomas bersama produk-produk fermentasi lainnya. Sebagai contoh: SCP (petrokimia).

D. Tipe fermenter

Desain fermenter mulai dari yang sederhana (tangki dengan putaran) sampai yang *integrated system* dengan komputer. Fermenter berdasarkan sistem tipe operasinya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:

1. Septis untuk pembuatan pengembang roti, bir (*brewing*).
2. Aseptis untuk memproduksi *fine product* seperti: antibiotik, asam amino, polisakarida dan *single cell protein* (SCP).

E. Skala fermenter

Fermenter berdasarkan skala produksinya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:

1. Skala kecil (*small scale*); untuk industri rumah tangga (*home industry*).
2. Skala besar (*large scale*); untuk industri skala besar (*petrokimia industry*). Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata.

F. Desain Media

Medium untuk fermentasi biasa disebut substrat. Biasanya pada teknologi fermentasi digunakan bahan dasar yang mengandung karbon. Oleh karena itu, kebanyakan berasal dari tumbuhan dan sedikit dari produk hewani. Sebagai contoh; biji-bijian (*grain*), susu (milk). *Natural raw material* berasal dari hasil pertanian dan hutan. Karbohidrat; gula, pati (tepung), selulosa, hemiselulosa, dan lignin.

1. Gula, bahan makanan yang mengandung gula mudah dan relatif mudah didapatkan untuk proses biotek.
2. Pati, jagung, padi, ganum, kentang, dan pohong (kassava) didegradasi menjadi gula sederhana (monosakarida) dengan hidrolisis sebelum fermentasi. Pati juga dapat digunakan sebagai bahan bakar non minyak (etanol).
3. Selulosa
4. Substrat dari limbah industri: Molase (tetes tebu), mengandung 50 % gula sebagai substrat untuk produksi antibiotik, asam organik. Whey (air dadih), Damen dan ampas tahu, bahkan urine hewan ternak.

Berdasarkan bentuknya substrat dapat dibedakan menjadi:

1. Substrat cair sebagai contoh air untuk pembuatan anggur. Media ini digunakan untuk menambah biomassa sel pada pertumbuhan bakteri, ragi dan mikroalga.
2. Substrat semi cair sebagai contoh media untuk pembuatan yoghurt. Media ini digunakan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup anaerobic untuk menambah biomassa sel.
3. Substrat padat sebagai contoh media yang digunakan untuk produksi tempe, oncom, kecap, kompos dsb. *Solid substrate fermentation* (SSF), melibatkan jamur berfilamen, yeast atau *Streptomyces*. Media padat umumnya dipergunakan untuk menumbuhkan bakteri, jamur dalam peremajaan dan pemeliharaan kultur murni dalam bentuk agar miring.

Substrat dari limbah industri seperti: Molase (tetes tebu), mengandung 50 % gula sebagai substrat untuk produksi antibiotik, asam organik. Whey (air dadih), Damen dan ampas tahu, bahkan urine hewan ternak bermanfaat untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba

§ Media mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba

§ Media mempunyai tekanan osmosa dan derajat keasaman yang sesuai untuk mikroba

§ Media harus dalam keadaan steril

G. Inokulum

Jasad hidup (*living thing*) meliputi organisme (mikroba) dan komponen sub selulernya dalam konteks bioteknologi merupakan organisme renik yang ada di alam. Mikroba memiliki sifat khas sehingga dapat digunakan sebagai sarana untuk memproduksi bahan-bahan kimia yang diperlukan oleh manusia. Mikroba memiliki kemampuan mensintesis berbagai senyawa di alam dan juga dapat menghasilkan berbagai jenis enzim yang dapat dimanfaatkan dalam industri pengolahan makanan, bahan kimia, dan/atau bahan farmasi.

Enzim yang dihasilkan merupakan katalisator yang mendorong terjadinya proses sintesis dan perombakan makhluk hidup.

1. Bakteri: *Bacillus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Eschericia sp.*
2. Jamur: *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*
3. Jamur filamentous:
4. Khamir (yeast): *Saccharomyces sp.*

Tabel 1. Berbagai jenis inokulum dan produknya

Jenis	Inokulum	Substrat	Produk
Jamur	<i>Rhizopus oligopus</i>	Kedele	Tempe
		Ampas kacang	Oncom
Khamir (Yeast)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bahan roti, tetes tebu	Roti
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bahan dasar karbohidrat: beras, ketan, ketela	Tape
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Air anggur, bir, brem	anggur, bir,
Bakteri	<i>Acetobacter xylinum</i>	Air kelapa	Nata de coco
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Air susu	Yoghurt
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>		
	<i>Lactobacillus sp</i>	sayuran	Larutan

- Kultur alami: dilakukan pada proses fermentasi tradisional yang memanfaatkan mikroorganisme yang ada di lingkungan (gatot dan growol yang dibuat dari singkong)
- Kultur murni: mikroorganisme yang akan digunakan dalam fermentasi dengan sifat dan karaktersitik yang diketahui dengan pasti sehingga produk yang dihasilkan memiliki stabilitas kualitas yang jelas

Sebagai contoh:

- Kultur murni tunggal: *Lactobacillus casei* pada fermentasi susu
- Kultur murni campuran: pada kecap yang menggunakan *Aspergillus oryzae* (fermentasi kapang), bakteri *Pediococcus sp* (fermentasi garam), dan khamir

Saccharomyces ruuxii.

F. Sumber Mikroba

- Sumber mikroba industri: sumber alami atau lembaga koleksi kultur

⌞ Sumber alami: tanah, air, sayuran segar/busuk, tanaman/hewan, limbah dll ⌞
jumlah dan jenis mikroba sangat beragam

- Tahap pertama dalam seleksi mikroba yang akan digunakan untuk industri : **I** isolasi mikroba, sehingga diperoleh kultur murni (semua sel dlm populasi identik & berasal dari sel induk yang sama **I** sifat morfologi & fisiologi seragam).
- Setelah itu dilakukan seleksi sehingga diperoleh galur dengan kinerja terbaik
- Terakhir baru dilakukan identifikasi dengan menggunakan kunci-kunci yang sesuai, sehingga diketahui nama (klasifikasi) mikroba tersebut
- Mikroba yang telah diperoleh harus disimpan dengan teknik penyimpanan yang baik, sehingga kemurniannya terpelihara dalam jangka waktu yang panjang.



Gambar 2 Medium untuk Mikroba

G. Seleksi Mikroba

Tujuannya adalah mendapatkan galur dengan kinerja terbaik, rendemen lebih tinggi, tidak menghasilkan produk sampingan yang tidak dikehendaki, peningkatan kemampuan penggunaan sumber C dan N yang murah, Perubahan morfologi sel menjadi bentuk yang lebih mudah dipisahkan dari produk, Pendekatan genetika untuk memperbaiki kualitas mikroba:

1. Mutasi
2. Rekombinasi

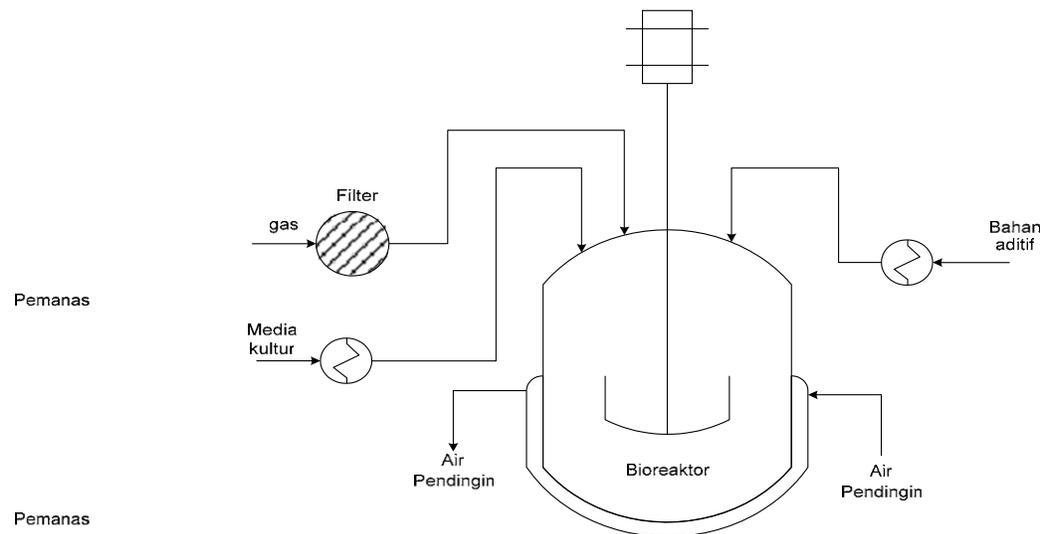
H. Desain Bioreaktor (Fermenter)

Wadah (fermenter) memberdaging kondisi lingkungan fisik yang cocok bagi katalis sehingga dapat berinteraksi secara optimal dengan substrat. Pada prinsipnya fermenter harus menjamin pertumbuhan mikroba dan produk dari mikroba di dalam fermenter. Semua bagian

di dalam fermenter pada kondisi yang sama dan semua nutrisi termasuk oksigen harus tersedia merata pada setiap sel dalam fermenter dan produk limbah seperti; panas, CO₂, dan metabolit harus dapat dikeluarkan (*remove*). Oleh karena itu, wadah perlu didesain sedemikian rupa sehingga proses dalam wadah dapat dimonitor dan dikontrol. Bioreaktor adalah suatu tangki yang di dalamnya terjadi proses kimia yang melibatkan mikroorganisme atau zat-zat biokimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

Proses aktivitas organisme dalam bioreaktor sangat dipengaruhi oleh kondisi- kondisi: pH, suhu dan lain-lain, oleh karena itu pada bioreaktor dilengkapi oleh Kontrol Aliran Gas (seperti O₂, N₂, CO₂), suhu, pH, Kadar oksigen terlarut, kecepatan putar pengaduk. Untuk mencegah terjadinya kontaminasi produksi dari lingkungan luarnya bioreaktor dan semua pipa pendukung harus disterilkan (biasanya dengan uap yang bertekanan tinggi).

Sterilisasi berarti hilangnya berbagai macam bentuk organisme yang dapat tumbuh, baik organisme yang menguntungkan maupun yang merugikan dan organisme yang dapat merusak maupun mematikan kultur murni yang dilakukan. Organisme ini dapat berbentuk seperti bakteri, virus, fungi, spora dan mikroorganisme yang lainnya (Bact, 2006). Untuk mencegah masuknya kontaminan melalui udara ke dalam sistem, udara yang masuk harus terlebih dahulu dilewatkan melalui *glass wool* yang steril.



Gambar 3 Alat Fermenter Khusus

Pada skala laboratorium atau industri skala kecil (*small scale*), pemerataan medium dalam fermenter dapat dilakukan cukup dengan mengocok atau memakai *shaker*. Pada skala

besar (*large scale*) dengan volume 2.000 liter, maka perlu desain fermenter khusus yang menjamin medium dapat tercampur homogen. Masalah utama fermenter untuk produksi skala besar adalah pemerataan medium kultur dalam fermenter. Harus homogen artinya medium kultur harus tercampur merata. Untuk mendapatkan sistem fermentasi yang optimum, maka fermenter harus memenuhi syarat sebagai berikut:

1. Terbebas dari kontaminan
2. Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
3. Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar
4. Kondisi lingkungan seperti: suhu, pH harus terkontrol. *Stirred tank reactor* system model yang banyak dipakai.

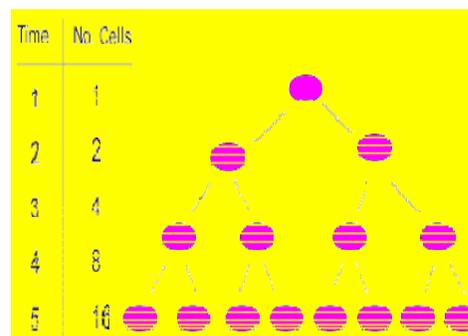
I. KULTIVASI MIKROBA

Kultivasi mikroba adalah upaya pemeliharaan bagi pertumbuhan mikroba. Untuk berhasilnya kultivasi mikroba diperlukan teknik aseptik, medium serta lingkungan fisik yang sesuai. Lingkungan dipengaruhi oleh:

- Temperatur
- Kelembaban
- kadar oksigen
- pH, dan
- tekanan osmosis

a. Kurva Pertumbuhan

Bila sel ditumbuhkan pada kultur curah, maka sel akan tumbuh dengan melalui : fase lag, fase eksponensial (fase log), fase stasioner dan akhirnya fase kematian



- Mengapa populasi sel meningkat dengan cara eksponensial ?
- Perhatikan sel tunggal di dalam bioreaktor. Sel ini membelah diri tiap jam (pembelahan biner).
- Populasi sel pada tiap waktu generasi dapat digambarkan sbb. Bila 1 sel membelah menjadi 2 sel $\hat{1} \hat{2} \hat{4} \hat{8} \dots$ dst
 $1 \hat{2}^1 \hat{2}^2 \hat{2}^3 \hat{2}^4 \dots \hat{2}^n = N$ (jumlah sel)

Pangkat (eksponen) n = jumlah generasi

b. Peningkatan Skala (*Up Scalling*)

Proses fermentasi berkembang dalam 3 tahap.

1. Tahap perintisan (laboratorium)
2. *Pilot plan*, dan
3. Skala lapangan (ekonomi).

Kondisi lingkungan meliputi: faktor kimia (konsentrasi substrat) dan faktor fisik (perpindahan medium, pencampuran medium). Faktor fisik menimbulkan problem pada skala besar. Sehingga perlu designer dari teknik kimia.

RANGKUMAN

1. Medium sebagai tempat tumbuh dan berkembang harus menjamin ketersediaan dan kebutuhan sel untuk hidup dan tumbuh berkembang. Medium mengandung nutrisi dan oksigen yang dibutuhkan sel.
2. Untuk mendapatkan sistem fermentasi yang optimum, maka fermenter harus memenuhi syarat sebagai berikut:
 - Bebas dari kontaminan
 - Volume kultur relatif konstan (tidak bocor atau menguap)
 - Kadar oksigen terlarut harus memenuhi standar
 - Kondisi lingkungan seperti: suhu, pH harus terkontrol. *Stirred tank reactor*
3. sistem model yang banyak dipakai.
4. Sistem fermenter tertutup dan terbuka:
 - a. Tertutup, semua nutrisi ditambahkan pada awal fermentasi dan pada akhir fermentasi dikeluarkan bersama produknya. Sebagai contoh: pembuatan bir

- (*brewing*), antibiotik, dan enzim. *All in all out*.
- b. Terbuka (kontinyu), jika seluruh komponen sistem seperti mikroorganisme dan nutrisi secara terus menerus terjadi pemasukan medium kultur dan pengeluaran biomas bersama produk-produk fermentasi lainnya. Sebagai contoh: SCP (petrokimia).
5. Desain fermenter mulai dari yang sederhana (tangki dengan putaran) sampai yang *integrated system* dengan komputer. Fermenter berdasarkan sistem tipe operasinya dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu:
- a. Septis untuk pembuatan pengembang roti, bir (*brewing*).
 - b. Aseptis untuk memproduksi *fine product* seperti: antibiotik, asam amino, polisakarida dan *single cell protein* (SCP).

LATIHAN SOAL

1. Mengapa medium dapat berfungsi sebagai tempat tumbuh dan berkembang sel?
2. Bagaimanakah desain fermenter?
3. Bagaimana proses dari kultivasi mikroba?

BAB 3

APLIKASI BIOTEKNOLOGI FERMENTASI UNTUK PENGAWETAN DAGING

KOMPETENSI DASAR:

Mahasiswa Mampu dan Memahami Tentang Aplikasi Industri Bioteknologi Fermentasi

A. Teknik Fermentasi untuk Pengawetan Daging

1. Fermentasi Ensiling Selada (*Lactuca sativa*)

Fermentasi merupakan suatu cara pengawetan alami melalui proses penguraian secara biologis atau semibiologis terhadap senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dalam keadaan terkontrol. Macam-macam fermentasi adalah: (1) fermentasi melalui proses yang memungkinkan terjadinya penguraian dan transformasi yang mampu menghasilkan suatu produk dengan bentuk dan sifat yang berbeda atau berubah dari keadaan awalnya, misalnya dalam pengolahan terasi, daging awetan; dan (2) fermentasi ensiling yaitu

proses fermentasi yang menghasilkan senyawa-senyawa yang secara nyata memiliki kemampuan atau daya awet terhadap produk yang diolah tersebut, misalnya fermentasi ensiling sayuran, fermentasi ensiling buah-buahan (Suriawiria, 1995).

Menurut Suriawiria (1980), sistem pengawetan daging yang umum dilakukan ialah secara fisis, kimiawi, dan biologis dengan fermentasi ensiling. Cara fermentasi ensiling sudah banyak digunakan untuk pengawetan bahan-bahan alami secara murah, mudah, sederhana, dan aman serta dapat memperbaiki sifat-sifat organoleptik bahan pangan (Suriawiria, 1995). Pada awalnya cara tersebut hanya dipergunakan untuk mengawetkan sayuran, tetapi kemudian dikembangkan untuk pengawetan semua bahan alami termasuk daging, telur dengan hasil yang baik dan memuaskan (Von Hofsten dan Wirahadikusumah, 1972). Bakteri asam laktat dapat diisolasi juga dari saluran cerna hewan, manusia, sayur-sayuran dan buah-buahan (Djide, 2008). Lade (2006) mengisolasi bakteri asam laktat dari limbah sayur-sayuran dan menghasilkan asam laktat dan bakteriosin yang bersifat antibakteri.

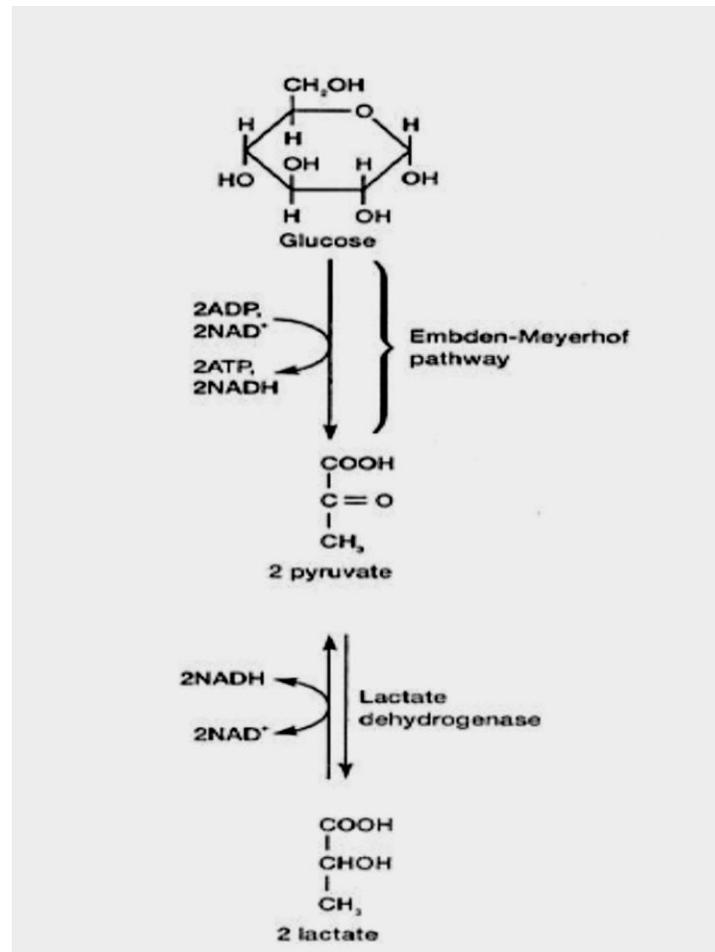


Gambar 4. Daun selada (*Lactuca sativa*)

Fermentasi ensiling daun selada (lihat gambar 4) merupakan proses biokimia yang dilakukan oleh kelompok bakteri asam laktat yang berlangsung dalam kondisi anaerobik berasal dari sayuran selada yaitu *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophylus*, *Leuconostoc mesenterousdes*, *Streptococcus faecalis*, dan *S. lactis*, yang berlangsung dalam kondisi anaerob. Suhu merupakan

faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri asam laktat. Secara umum bakteri asam laktat tergolong bakteri mesofilik, dengan kisaran suhu pertumbuhan antara 10-45⁰C, dan suhu optimal pertumbuhan antara 20-40⁰C (Fardiaz, 1992). Namun ada beberapa spesies bakteri asam laktat tergolong bakteri termofilik yang mempunyai suhu optimal pertumbuhannya 40-50⁰C (Mayra-Makinen dan Bigret, 1998). Suhu inkubasi dalam proses pembuatan larutan fermentasi ensiling selada pada suhu kamar yang berkisar antara 25-30⁰C, kondisi sesuai dengan suhu optimal pertumbuhan bakteri asam laktat.

Bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri asam laktat yang penghasil asam laktat. Bakteri asam laktat homofermentatif mampu menghasilkan enzim fruktosa difosfat aldolase dalam jalur Embden-Meyerhoff. Mekanisme pembentukan asam laktat, yaitu asam piruvat akan diubah menjadi asam laktat dan diikuti dengan proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD⁺. Pola fermentasi ini dapat dibedakan dengan mengetahui keberadaan enzim-enzim yang berperan di dalam jalur glikolisis. Jalur metabolisme bakteri asam laktat homofermentatif ialah glukosa diubah menjadi dua piruvat melalui jalur Embden-Meyerhoff dengan proses transfer elektron dari 2 NAD⁺ menjadi 2 NADH dan mengubah 2ADP menjadi 2ATP. Dua piruvat diubah menjadi 2 *lactate* dengan bantuan enzim *lactate dehydrogenase* sebagai biokatalisator. Proses transfer elektron dari 2NADH menjadi 2NAD⁺ terjadi. Jalur metabolisme homofermentatif dari bakteri asam laktat disajdaging pada Gambar 5.



Gambar 5 Jalur Metabolisme Homofermentatif dari Bakteri Asam Laktat (Bailey and Ollis, 1987)

Fermentasi ensiling daun selada merupakan teknik fermentasi yang menggunakan bantuan garam NaCl dalam prosesnya sehingga lebih efisien dan efektif. Garam dalam larutan fermentasi ensiling daun selada dapat menarik keluar gula (glukosa) dalam sayuran selada. Glukosa merupakan nutrisi yang diperlukan oleh kelompok bakteri asam laktat yang terdapat dalam larutan fermentasi ensiling daun selada. Selanjutnya glukosa diuraikan oleh kelompok bakteri asam laktat menjadi asam laktat. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kusumarwati (2008) dan kegiatan Program Kreativitas Mahasiswa-Program Tertulis (PKM-GT) yang dilakukan oleh Hengky (2010) dijelaskan bahwa tujuan dari pembuatan larutan fermentasi daun

selada yang telah mengalami fermentasi yaitu untuk digunakan sebagai alternatif bahan pengawet alami pada produk daging yang murah dan efisien serta bisa diterapkan oleh masyarakat sehingga dapat meningkatkan masa simpan produk daging. Konsentrasi asam laktat pada larutan fermentasi daun selada yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan hasil penelitian Kusumarwati (2008) yaitu 85%.

Larutan fermentasi daun selada dapat digunakan sebagai starter bakteri asam laktat seperti halnya yang digunakan dalam fermentasi kubis. Kelebihan dari larutan daun selada yaitu, dapat menjadi media tumbuh yang baik bagi kelompok bakteri asam laktat homofermentatif yang mampu menghasilkan asam laktat dan senyawa antibakteri yaitu bakteriosin yang dapat berfungsi secara langsung untuk menghambat atau membunuh bakteri pembusuk (Sartini, 2005).

Selanjutnya Sartini (2005) mengemukakan bahwa pembentukan asam laktat menghasilkan pH optimum dengan interval pH 3,5 – 6. Bakteri asam laktat mampu hidup pada interval pH antara 3,5-6. Bakteri asam laktat memiliki hubungan antagonisme dengan bakteri pembusuk pada daging. Menurut Waluyo (2007), pH optimum bakteri ialah antara 6,5-7,5. Pemberian larutan fermentasi ensiling selada yang mengandung asam laktat dapat menurunkan pH daging. Keadaan asam akibat penurunan pH akan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk (Ilyas, 1983). Nilai pH daging menurun sejalan dengan semakin lama masa simpan daging.

Bakteri asam laktat homofermentatif selain mampu menghasilkan asam laktat juga menghasilkan senyawa antibakteri yaitu bakteriosin yang dapat berfungsi secara langsung untuk menghambat atau membunuh bakteri pembusuk (Sartini, 2005). Bakteriosin merupakan protein (Balasurbramnyam, 1985). Target kerja bakteriosin ialah membran sitoplasma sel bakteri termasuk bakteri pembusuk daging.

Mekanisme kerja bakteriosin yang memiliki sifat antagonis terhadap bakteri pembusuk daging ialah dengan melakukan destabilisasi dari fungsi membran sel sehingga fungsi membran sel menurun dan semipermeabilitas membran sel terganggu. Setelah bakteriosin menembus dinding sel bakteri pembusuk daging, lalu bakteriosin merusak semipermeabilitas membran sel. Selanjutnya semipermeabilitas membran sel akan menurun, sehingga mengakibatkan keluar masuknya zat-zat dari dalam sitoplasma keluar maupun zat-zat dari luar masuk kedalam tidak terkendali. Hal ini mengakibatkan air dan nutrisi dari sitoplasma keluar dari sel sehingga metabolisme seluler terhambat. Apabila enzim-enzim juga keluar dari dalam sitoplasma maka akan menyebabkan metabolisme seluler lebih terhambat lagi sehingga ATP menurun dan terjadi penghambatan pertumbuhan sel bakteri pembusuk. Selanjutnya terjadi kematian sel bakteri (Siswanto dan Ilham, 2009).

Senyawa antibakteri bakteriosin telah banyak dimanfaatkan dalam bidang biopreservatif atau pengawetan daging secara biologi karena memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri pembusuk daging baik bakteri Gram positif dan Gram negatif (Ali, 1998). Menurut Sudirman (1996) dalam Nurliana (1997) penggunaan bakteriosin sebagai biopreservatif mempunyai beberapa keuntungan, yaitu (1) tidak toksik dan mudah mengalami biodegradasi karena merupakan senyawa protein; (2) tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan; (3) aman bagi lingkungan dan dapat mengurangi penggunaan bahan kimia sebagai bahan pengawet; dan (4) dapat digunakan dalam kultur bakteri yang mampu menghasilkan senyawa antibakteri terhadap bakteri kontaminan atau dapat digunakan dalam bentuk senyawa antibakteri yang telah dimurnikan. Penggunaan bakteriosin dapat menggantikan bahan kimia yang berbahaya seperti formalin dan boraks yang selama ini digunakan sebagai bahan pengawet daging (Abdelbasset, 2008).

b. Fermentasi Biji Kepayang (*Pangium edule Reinw.*)

Biji Kepayang juga dinamakan biji kluwak (lihat gambar 6). Dalam kehidupan sehari-hari, biji kepayang juga digunakan sebagai salah satu bumbu masakan rawon. Berdasarkan hasil penelitian oleh Husni (2007) dikemukakan bahwa fermentasi biji kepayang (*Pangium edule Reinw*) dapat menghasilkan zat yang mempunyai sifat antibakteri sehingga, sifat ini dapat diaplikasikan sebagai pengawet pada daging. Hasil fermentasi biji kepayang, terbukti dapat dimanfaatkan sebagai pengawet daging segar. Kombinasi antara 1% biji kepayang dengan 2% garam dalam penelitian ini diharapkan mampu mengawetkan daging segar selama empat belas hari, tanpa perubahan mutu daging yang berarti.



Gambar 6 Biji Kepayang (*Pangium edule Reinw*)

Proses fermentasi biji kepayang menghasilkan senyawa kimia alami, yang bersifat antibakteri, yaitu beberapa macam asam yang dapat menurunkan pH dan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dalam daging. Komponen pada fermentasi biji kepayang yang bersifat antibakteri ialah kandungan asam lemak siklik tidak jenuh yang dapat menurunkan pH dalam daging, yaitu asam khaulmograt $(\text{CH})_{12}\text{COOH}$, asam hidrokarpat $(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$, asam gorlat $((\text{CH}_2)_6 \text{CHCH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$ (Kusumarwati, 2008). Disamping itu terdapat pula senyawa

antioksidan untuk mencegah ketengdaging dalam tubuh daging yang diawetkan dengan fermentasi biji kepayang, yaitu: vitamin C dan senyawa-senyawa asam lemak yakni asam oleat, asam linoleat, dan asam palmitat; serta saponin, flavonoid, minyak atsiri, emodol, poliuronida, gula pereduksi dan sterol (Kusumarwati, 2008). Selain itu terdapat pula senyawa antibakteri yaitu tanin. Tanin dan flavonoid termasuk senyawa fenolik yang bersifat antibakteri yang ada dalam *Pangium edule Reinw.* yang telah difermentasi. Tanin dan flavonoid juga dapat melawan bakteri pembusuk daging, seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Husni, 2007).

Menurut Widyasari (2006), tanin dan flavonoid sebagai zat antibakteri dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri dengan beberapa mekanisme, yaitu: (1) merusak dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan lisis atau menghambat pembentukan dinding sel pada sel sedang tumbuh; (2) mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan terjadinya lisis, yaitu keluarnya isi dalam sel dan menyebabkan enzim tidak aktif; (3) menghambat sintesis protein. Desroiser (1988) mengemukakan bahwa tanin dan flavonoid juga merupakan antioksidan yang dapat menghambat kerusakan lemak sehingga mencegah terjadinya ketengdaging yang dapat mempengaruhi perubahan rasa daging daging menjadi agak asam, pahit, dan tengik.

Saponin ialah senyawa antibakteri aktif yang kuat. Senyawa ini larut dalam air dan etanol tapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995). Saponin bekerja sebagai senyawa antibakteri. Saponin bekerja dengan cara mengurangi tegangan permukaan sel bakteri sehingga membran sel mengalami kerusakan. Kerusakan membran sel bakteri menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Nio, 1989). Menurut Dwidjoseputro (1994) menyatakan bahwa saponin memiliki molekul yang dapat menarik air atau hidrofilik dan molekul yang dapat melarutkan

lemak atau lipofilik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel sehingga mengganggu stabilitas membran sel bakteri dan menyebabkan sel bakteri mengalami lisis.

c. Perpaduan Fermentasi Ensiling Daun Selada dan Fermentasi Biji Kepayang

Pemilihan pengawetan daging dengan bahan alami menggunakan perpaduan fermentasi ensiling daun selada dan biji kepayang untuk menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk telah memenuhi syarat yang dikemukakan oleh Fardiaz (1992) khususnya mengenai pemilihan bahan antimikroba untuk pengendalian mikroorganisme yang merugikan, yaitu: (1) mempunyai sifat bakterisidal; (2) mempunyai sifat bakteriostatik. Senyawa-senyawa kimia dalam daun selada dan biji kepayang yang memiliki sifat bakterisidal dan bakteriostatik, dan sebagai antioksidan, ialah; bakteriosin, tanin, flavonoid, dan saponin.

Pengawetan daging dengan menggunakan perpaduan fermentasi ensiling daun selada dan fermentasi biji kepayang diharapkan dapat meningkatkan daya tahan simpan daging dalam waktu yang lebih lama namun tetap layak dikonsumsi dan aman bagi kesehatan para konsumen daging. Apabila daya tahan simpan daging lebih lama, konsumen akan mendapat keuntungan, karena mereka dapat menyimpan daging dalam waktu yang lebih lama dan tetap dalam keadaan layak dikonsumsi.

d. Kemungkinan Mekanisme Kerja Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Pembusuk Daging oleh Interaksi Sinergistik Senyawa Antibakteri dari Perpaduan Fermentasi Ensiling Daun Selada dan Fermentasi Biji Kepayang

Pengawetan daging dengan perpaduan fermentasi ensiling daun selada dan fermentasi biji kepayang dilakukan sebelum daging mengalami fase *pre rigor mortis*. Pada fase *pre rigor mortis* terjadi proses hiperaemia. Proses hiperaemia merupakan proses terlepasnya lendir dari kelenjar-kelenjar lendir yang ada di dalam daging. Lendir tersebut terdiri dari glukoprotein dan merupakan substrat yang baik bagi pertumbuhan bakteri kontaminan (Singgih, 2010). Proses

selanjutnya ialah membentuk lapisan bening yang tebal di sekeliling tubuh daging. Lapisan ini menjadi substrat yang baik bagi pertumbuhan bakteri pembusuk daging.

Perlakuan pengawetan daging dengan perpaduan fermentasi tersebut dilakukan secara bertahap dimulai dengan merendam daging dalam larutan fermentasi ensiling daun selada. Asam laktat yang terkandung dalam larutan fermentasi ensiling daun selada dapat menurunkan pH tubuh daging. Bakteri kontaminan yang menyebabkan pembusukan pada daging tidak tahan terhadap pH rendah. Menurut Waluyo (2007) pH optimum bakteri ialah antara 6,5-7,5. Bakteri pembusuk daging dapat tumbuh dan berkembangbiak pada pH antara 6,5-7,5. Fermentasi ensiling daun selada menjadi media tumbuh kelompok bakteri asam laktat homofermentatif yang menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH pada tubuh daging menjadi 3,5-6 (Sartini, 2005). Diharapkan bakteri pembusuk daging terhambat pertumbuhannya karena pH rendah pada tubuh daging yang disebabkan oleh adanya asam laktat.

Apabila pH lingkungan bakteri kontaminan berada dibawah pH minimum bakteri mampu tumbuh maka metabolisme tubuh bakteri tidak dapat berlangsung sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Larutan fermentasi ensiling daun selada merupakan larutan hipertonis bagi bakteri kontaminan sehingga menyebabkan terjadi plasmolisis sel bakteri kontaminan, yaitu keluarnya air dari dalam sitoplasma, sehingga terjadi penurunan tekanan turgor, dan selanjutnya terjadi kematian sel bakteri kontaminan. Perlakuan pengawetan selanjutnya setelah merendam daging dalam larutan fermentasi ensiling daun selada ialah memasukkan biji kepayang yang dicampur garam ke dalam perut daging. Biji kepayang yang telah difermentasi memiliki kandungan asam lemak siklik tidak jenuh yang dapat menurunkan pH dalam tubuh daging, yaitu asam khaulmograt $(CH)_{12}COOH$, asam hidrokarpat $(CH_2)_{10}COOH$, asam gorlat $((CH_2)_6CHCH(CH_2)_4COOH$. Perut daging mengalami penurunan pH yang disebabkan oleh dua hal,

yaitu asam laktat dari perendaman dalam larutan fermentasi ensiling daun selada dan asam lemak siklik tidak jenuh yang terkandung dalam biji kepayang yang dimasukkan dalam daging. Bakteri kontaminan pembusuk daging semakin tidak mampu tumbuh dalam perut perut daging karena tidak tahan terhadap pH rendah dan keadaan lingkungan luar sel bakteri yang lebih hipertonis dibandingkan dalam tubuh sel bakteri kontaminan.

Pada larutan fermentasi ensiling daun selada juga terdapat senyawa antibakteri bakteriosin yang memiliki sifat bakteriostatik, yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan, sedangkan pada fermentasi biji kepayang terdapat senyawa antibakteri tanin, flavonoid, saponin yang memiliki sifat bakteriostatik dan bakterisida, yaitu dapat menghambat dan membunuh bakteri kontaminan pembusuk daging. Senyawa-senyawa antibakteri yang berasal dari pengawetan daging dengan perpaduan dari kedua fermentasi ini memiliki mekanisme kerja yang saling berinteraksi secara sinergistik. Kemungkinan mekanisme kerja interaksi sinergistik senyawa-senyawa antibakteri ialah menghambat pertumbuhan sel atau membunuh bakteri pembusuk. Volk dan Wheeler (1988) menambahkan bahwa pada prinsipnya mekanisme kerja senyawa antibakteri ialah menyebabkan perubahan pada bagian sel yang vital dari bakteri pembusuk daging seperti dinding sel, membran sitoplasma, enzim-enzim dan protein struktural, serta sebagai antioksidan.

Bakteriosin sebagai senyawa antibakteri dapat melakukan destabilisasi terhadap fungsi membran sel, sehingga fungsi membran sel bakteri pembusuk menurun dan semipermeabilitas membran sel menurun. Keluar masuknya senyawa-senyawa dari dalam sel keluar dan sebaliknya tidak terkendali. Air dan nutrisi dalam sitoplasma akan keluar dari dalam sel bakteri. Enzim-enzim juga dapat keluar dari dalam sel, sehingga mengakibatkan metabolisme menurun dan ATP yang dihasilkan juga menurun. Selanjutnya terjadi penghambatan pertumbuhan sel bakteri dan

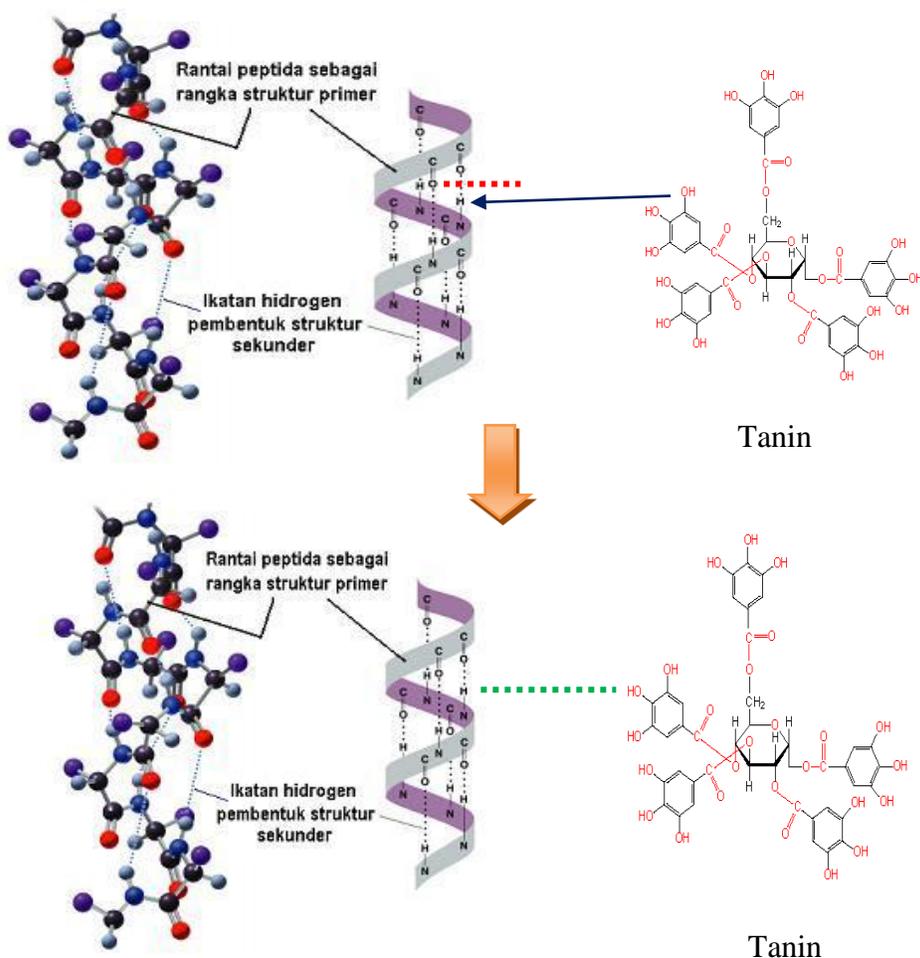
akhirnya terjadi kematian sel bakteri. Senyawa antibakteri bakteriosin melakukan interaksi sinergistik dengan senyawa antibakteri yang dihasilkan dari fermentasi biji kepayang, yaitu tanin, flavonoid, dan saponin.

Senyawa tanin dan flavonoid ialah senyawa antibakteri yang merupakan senyawa polifenol, yaitu senyawa yang memiliki sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa (Robinson, 1995). Tanin dan flavonoid memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa fenolik lainnya dalam menghambat dan membunuh bakteri, adapun mekanisme yang terjadi pada bakteri pada umumnya menurut Zuhud, (2001) ialah bahwa senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara : (1) menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri; (2) menyebabkan kerusakan membran sel; (3) menghambat kerja enzim; dan (4) menghambat sintesis protein. Adapun saponin bekerja dengan cara mengurangi tegangan permukaan sel bakteri sehingga membran sel mengalami kerusakan. Mekanisme tersebut juga dapat terjadi pada bakteri pembusuk daging yang mendapat perlakuan pemaparan senyawa-senyawa antibakteri, antara lain: tanin dan flavonoid.

Dinding sel suatu bakteri pembusuk daging berfungsi sebagai pelindung untuk mempertahankan bentuk dan integritas sel, serta pengatur pertukaran zat. Dinding sel bakteri tersusun atas lapisan peptidoglydaging dan dengan adanya lapisan ini menyebabkan dinding sel bersifat kaku dan kuat sehingga mampu menahan tekanan osmotik dalam sel (Suryani, 2008). Adanya senyawa-senyawa antibakteri dapat menyebabkan kerusakan struktur dinding sel. Senyawa kimia yang bersifat antibakteri dapat bereaksi dengan senyawa penyusun dinding sel bakteri pembusuk daging sehingga mempengaruhi penghambatan polimerisasi penyusunan dinding sel. Senyawa antibakteri tersebut akan mendenaturasi protein struktural dinding sel yaitu dengan merubah struktur dari protein. Perubahan struktur protein struktural dinding sel bakteri

pembusuk disebabkan oleh adanya perubahan pada ikatan hidrogen intramolekul. Protein struktural dinding sel memiliki ikatan hidrogen intramolekul yang lemah sehingga mudah berikatan dengan senyawa antibakteri (Siswandono, 1995). Siswandono (1995) menyatakan bahwa ikatan Hidrogen dapat terjadi antara atom H dengan atom yang lain yang bersifat elektronegatif seperti atom O, N, dan F. Pada pengawetan dengan perpaduan fermentasi ensiling daun selada dan fermentasi biji kepayang terdapat senyawa tanin yang mempunyai gugus OH pada strukturnya. Adanya atom O dari gugus OH dapat membentuk ikatan Hidrogen dengan atom H dari gugus amino dalam protein, sehingga ikatan Hidrogen yang terbentuk antara atom H dalam gugus amino dan atom O dalam gugus karbonil akan terutus dan terbentuk ikatan Hidrogen antara atom H dari gugus amino dan atom O dari gugus OH dalam tanin (lihat Gambar 2.6).

Apabila terjadi ikatan Hidrogen baru antara senyawa antibakteri dengan protein struktural dinding sel, maka ikatan Hidrogen intermolekul yang terdapat pada protein struktural terputus sehingga struktur dari protein struktural dinding sel berubah. Hal ini mengakibatkan protein struktural dinding sel kehilangan fungsi aslinya (Martoharsono, 1989), sehingga proses pembentukan dinding sel akan terhenti dan menyebabkan sel bakteri pembusuk tidak memiliki dinding sel. Fungsi dinding sel bakteri pembusuk berkaitan erat dengan membran sel bakteri. Bila terjadi kerusakan pada dinding sel bakteri, yang merupakan pelindung sel bakteri maka membran sel juga dapat mengalami kerusakan.



Gambar 7. Mekanisme Denaturasi Protein oleh Senyawa Tanin (dimodifikasi dari Zulfikar, 2008)

Keterangan:

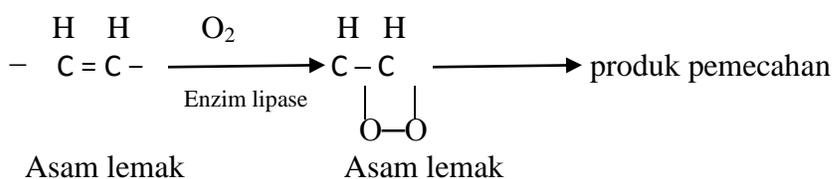
- : Atom O dari gugus OH membentuk ikatan Hidrogen dengan atom H dari gugus amino dari protein
- : Atom O dari gugus karbonil dan Atom H dari gugus amino dalam protein terputus
- : Ikatan Hidrogen baru antara atom O dari gugus OH dari tanin dengan atom H dari gugus amino dari protein

Selain dapat menyebabkan kerusakan membran sel, senyawa antibakteri juga dapat menghambat kerja enzim. Enzim adalah [biomolekul](#) berupa [protein](#) khusus yang berfungsi sebagai [biokatalisator](#) dalam proses metabolisme. Senyawa antibakteri berperan sebagai inhibitor kerja enzim (Boyer, 1999). Kemungkinan bekerjanya senyawa antibakteri ialah sebagai inhibitor kompetitif dan inhibitor non kompetitif. Inhibitor kompetitif bersaing dengan substrat untuk memasuki bagian aktif enzim bakteri pembusuk. Adapun inhibitor non kompetitif tidak bersaing

dengan substrat terhadap bagian aktif enzim, karena bekerja pada bagian lain. Senyawa antibakteri yang menghambat aktivitas enzim menyebabkan metabolisme seluler terhambat dan ATP yang dihasilkan menurun.

Volk dan Wheeler (1988) mengemukakan bahwa senyawa antibakteri juga dapat menghambat sintesis asam nukleat atau nukeloid dengan cara berinteraksi dengan benang heliks DNA sehingga mencegah replikasi atau transkripsi berikutnya. Apabila transkripsi terhambat maka proses translasi tidak dapat dilakukan atau dengan melakukan kombinasi dengan polimerase yang terlibat dalam biosintesis DNA atau RNA. Sintesis asam nukleat yang mengalami penghambatan dapat berpengaruh terhadap terhambatnya sintesis protein, sehingga protein tidak dapat terbentuk. Apabila sintesis protein terhambat, maka terjadi penghambatan penyusunan organel sel, dan enzim-enzim, sehingga metabolisme sel terhambat. Proses metabolisme sel yang terhambat menyebabkan penurunan aktivitas sel bakteri kontaminan. Selanjutnya terjadi penghambatan pertumbuhan sel bakteri yang menyebabkan kematian sel bakteri kontaminan.

Tanin dan flavonoid selain sebagai senyawa antibakteri juga merupakan antioksidan dalam daging yang dapat menghambat proses ketengikan yang disebabkan oleh aktivitas bakteri lipolitik yang memiliki enzim lipase. Menurut Adawyah (2007) dalam daging terdapat 17-21% asam lemak jenuh dan 79-83% asam lemak tidak jenuh. Sebagian besar daging mengandung asam lemak tidak jenuh yang mudah mengalami kerusakan dan menyebabkan ketengikan. Desroiser (1988) mengemukakan bahwa enzim lipase dan oksigen dari udara disekitar daging dapat memecah asam lemak tidak jenuh ikatan rangkap menjadi asam lemak berantai pendek. Pemecahan asam lemak tidak jenuh dapat dilihat pada gambar 8 berikut.



Tidak jenuh berantai pendek

Gambar 8. Pemecahan Asam Lemak Tidak Jenuh

Ikatan rangkap yang ada dalam asam lemak tidak jenuh merupakan pusat aktif yang dapat bereaksi dengan oksigen. Oksidasi lemak dapat menyebabkan kerusakan jaringan tubuh daging secara *in vivo*. Asam lemak berantai pendek yang terurai menjadi produk pemecahan menyebabkan ketengikan dalam daging. Ketengikan menyebabkan perubahan pada aroma dan rasa dalam daging. Aroma daging berubah menjadi tidak enak dan asam tengik sedangkan rasa daging berubah menjadi tidak enak, asam tengik, dan pahit. Antioksidan dapat menghambat proses ketengikan dengan menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan dalam daging sehingga tidak terjadi pemecahan asam lemak tidak jenuh ikatan rangkap menjadi asam lemak berantai pendek oleh aktivitas enzim lipase.

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lemak sehingga tidak ada pemecahan lemak (Kochhar dan Rossell, 1990). Mekanisme kerja dari antioksidan (AH) yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Senyawa ini dapat memberdaging atom hidrogen untuk berikatan dengan oksigen dari udara sehingga lemak lebih stabil dan tidak mengalami pemecahan, sementara turunan antioksidan (A*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lemak lain membentuk senyawa baru (Gordon, 1990).

RANGKUMAN

1. Fermentasi merupakan suatu cara pengawetan alami melalui proses penguraian secara biologis atau semibiologis terhadap senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dalam keadaan terkontrol.
2. Fermentasi ensiling daun selada merupakan proses biokimia yang dilakukan oleh kelompok bakteri asam laktat yang berlangsung dalam kondisi anaerobik berasal dari sayuran selada yaitu *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *Leuconostoc mesenterousdes*, *Streptococcus faecalis*, dan *S. lactis*, yang berlangsung dalam kondisi

anaerob.

3. Proses fermentasi biji kepayang menghasilkan senyawa kimia alami, yang bersifat antibakteri, yaitu beberapa macam asam yang dapat menurunkan pH dan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dalam daging.
4. Pemilihan pengawetan daging dengan bahan alami menggunakan perpaduan fermentasi ensiling daun selada dan biji kepayang untuk menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk telah memenuhi syarat yang dikemukakan oleh Fardiaz (1992) khususnya mengenai pemilihan bahan antimikroba untuk pengendalian mikroorganisme yang merugikan, yaitu: (1) mempunyai sifat bakterisidal; (2) mempunyai sifat bakteriostatik.

LATIHAN SOAL

1. Deskripsikan apa yang dimaksud dengan:
 - a. Fermentasi
 - b. Fermentasi ensiling
2. Berdasarkan pada apa pemilihan pengawetan daging dengan menggunakan perpaduan fermentasi ensiling daun selada dan biji kepayang?
3. Bagaimanakah kemungkinan mekanisme kerja penghambatan pembusukan oleh perpaduan pengawetan daging dengan fermentasi ensiling daun selada dan biji kepayang?

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelbasset and Djamila. 2008. Antimicrobial Activity of Autochthonous Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Tradisional fermented Milk “Raib”. *African Journal of Biotechnology*, 7 (16): 2908-2914
- Adawyah. 2006. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara.
- Adnyana. 2004. *Pengembangan Model Pembelajaran Kooperatif Bermodul yang Berwawasan STM dan Pengaruh Implementasinya terhadap Hasil Belajar Biologi*. Disertasi tidak diterbitkan. Malang: Program Pascasarjana UM MALANG
- Adnyana, dan Sumiati. 2005. Kunyit, si Kuning yang Kaya Manfaat, (Online), (www.iptek.com), diakses 22 Maret 2006
- Ali and Radu. 1998. *Isolation and screening of Bacteriocin Producing LAB from Tempeh*. Malaysia: University of Malaysia
- Amin, Wazna, Leksono, Tjipto. 2001. Analisis Pertumbuhan Mikroba Ikan Jambal Siam (*Pangasius sutchi*) Asap yang Telah Diawetkan Secara Ensiling. *Jurnal Natur Indonesia* 4 (1): 1-9
- Andarwulan, Fardiaz, Apriyanto, Haryadi, dan Shetty. 1999. Mobilization Of Primary Metabolites And Phenolics During Natural Fermentation In Seeds of *Pangium edule* Reinw. *Journal Process Biochemistry*. 35: 197-204.
- Afrianto, E., dan E. Liviawaty. 1989. *Pengawetan dan Pengolahan Ikan*. Yogyakarta: Kanisius
- Afrianto, E., E. Liviawaty., dan I. Rostini. 2006. *Pemanfaatan Limbah Sayuran untuk Memproduksi Biomasa Lactobacillus plantarum sebagai Bahan Edible Coating dalam Meningkatkan Masa Simpan Ikan Segar dan Olahan*. Laporan Akhir. Unpad
- Akiyama, Fuji. 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Againsts *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Lawrence, 48: 487-491

- Andarwulan, Fardiaz, Waimena. 1999. Antioxidant Activity Associate with Lipid and Phenolic Mobilization During Seed Germination of *Pangium edule Reinw.* *Journal Agricultural Food Chemistry*, 47: 358-363
- Ali, G.R.R. and S. Radu. 1998. *Isolation and Screening of Bacteriocin Producing LAB from Tempeh.* University of Malaysia
- Al Muhdhar. 2011. *Pengelolaan Sampah Terpadu Melalui Pendidikan Masyarakat Berbasis Pembudayaan 6M.* Pidato Pengukuhan Guru Besar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) tanggal 15 Desember 2011. Universitas Negeri Malang
- Amano, K. 1962. The Influence of Fermentation on The Nutritive Value of Fish Special Reference Fish Product of South Asia. *Journal Fish in Nutrition (FAO)*, 7: 180-200
- Aswar. 1995 *Pembuatan Fish Nugget dari Ikan Nila Merah (Oreochromis sp.).* Skripsi Tidak Diterbitkan. Bogor: IPB
- Amanah. 2011. *Peran Komunikasi Dalam Pemberdayaan Masyarakat Pesisir.* Makalah Penunjang Dalam Seminar Nasional Komunikasi Pembangunan Mendukung Peningkatan Kualitas Sumberdaya Manusia Dalam Kerangka Pengembangan Masyarakat. IPB. Bogor, 3 Maret
- AOAC. 1995. *Official Methods of The Association of Official Analytical Chemist.* Washington: AOAC Inc
- Apriyanti. 2007. *Peranan Inhibitor Katepsin dalam Menghambat kemunduran Mutu Ikan Nila (Oreochromis sp).* Skripsi tidak Diterbitkan. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Astawan, M, 2008. Biskuit, (Online), (<http://www.depkes.go.id>), diakses 28 Desember 2009
- Astawan, M, 2009. Kecambah Kedelai (Online), (<http://www.kompas.com>), diakses 1 Juni 2010
- Astawan, M, 2010. Bahan Pangan Berwarna Putih, (Online), (<http://www.cybermetd.cbn.net.id>), diakses 1 Juni 2010
- Aslan, La Ode Muhamad dan Nadia, La Ode Abdul Rajak. 2009. *Potret Masyarakat Pesisir Sulawesi Tenggara.* Kendari : Unhalu Press
- Bacala, R. dan V. Barthelet. 2007. *Development of Extraction and Gas Chromatography Analytical Methodology for Cyanogenic Glycosides in Flaxseed (linum usitatissimum).* Food Chemical Contaminants. *Journal of AOAC International*. 90 (1) : 153-160
- Bahri. 1995. *Strategi Belajar Mengajar.* Jakarta: Rineka Cipta

- Baskara. 2008. *Pengembangan Mata Pencanharian Alternatif Bagi Masyarakat Pesisir Pantai Utara Jawa Tengah*. Bogor: LKTM BEM Program Pembinaan Dan Pemberdayaan Masyarakat Pesisir
- Barasubramanyam. 1995. Antibacterial Effect of *Lactobacillus* spp on foodborne Pathogenic Bacteria in an Indian Milk Based Fermented Culinary Food Item. *Culture Dairy Product Journal* 30:22-24, 26-27
- Bengen. 2001. *Pengelolaan Sumberdaya Wilayah Pesisir Secara Terpadu, Berkelanjutan Dan Berbasis Masyarakat*. Makalah Pada Sosialisasi Pengelolaan Sumberdaya Berbasis Masyarakat. Bogor, 21-22 September 2001.
- Bowling Dan Barbara. 2002. Shaping Communities Through Extension Programs. *Journal Of Extension*, 40 (3): 34-40
- Borg, W.R. & Gall, M.D 1985. *Educational Research An introduction*. New York: Longman
- Breed, R. S, Murry E. G. D dan Smith N. R. 1957. *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology (Seventh Edition)*. Baltimore: The Wilkins Company
- Buckle. 1987. *Ilmu Pangan terjemahan*. UI-Press. Jakarta
- Budiarso, I.T. 1994. *Dampak Mikotoksin terhadap Kesehatan. Pusat penelitian Penyakit Tidak Menular. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran.
- Cahyadi. 2008. Kedelai, Alternatif Pemasok Protein, (Online), (<http://www.conectique.com>), diakses 17 Januari 2010
- Clarke, E.G.C. dan M.L. Clarke. 1977. *Cyanides*. Veterinary Toxicology. New York: Collier Mcmillan Publisher
- Cipta Media Bersama. 2011. Penggunaan Booklet Karikatur Sebagai Alat Untuk Deteksi Dini Tumbuh Kembang Anak Bagi Kader Pos PAUD Di Kotamadya Salatiga, (Online), (www.Ciptamedia.Org/2011/09/20/P), diakses 10 Oktober 2011
- Dalefield, R.R. 2000. Rapid method for the detection of cyanide gas release from plant material using CYANTESMO Paper. *Journal Vet. Human Toxicol*, 42 (6) : 356-357
- Denter. 1994. Formation of B-vitamins by bacteria during the soaking process of soybeans for tempe fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 14 (1): 123-129
- Depkes RI. 2006, (Online), (www.gizi.net), diakses 10 Maret 2011
- Desroiser. 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Terjemahan Muchji Muljohardjo (1995). UI Press. Jakarta
- De Vuyst dan Vandame. 1994. *Bacteriocins of Lactid Acid Bacteria: Microbiology, Genetics and Aplications*. First Edition. Galsgow: Blackie Academic and Professional. Chapman and Hall
- Dwijoseputro. 1984. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan

- Gilib. 2009. Pengembangan Ekonomi Daerah Berbasis Kawasan Andalan pada Desa Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil di Kabupaten Muna, (Online), (<http://digilib.its.ac.id/public/ITS-Master-8704-4107205007>), diakses 24 Juli 2010.
- Hardiati. 2009. *Pengaruh Pemberian Booklet Terhadap Pengetahuan Dan Sikap Siswa Perempuan Dan Laki-Laki Mengenai Penyalahgunaan Napza di SMA Negeri 01 Limbangan Kecamatan Limbangan Kabupaten Kendal*. Tesis Tidak Diterbitkan. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada
- Hardjanto. 1999. *Pengaruh Nutrisi dan Lama fermentasi terhadap Produksi Biogum dari Enterobacter sp dan Erwina sp*. Skripsi tidak diterbitkan. Fakultas Teknik pertanian. IPB. Bogor
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. Dan Williams, S. T. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 10th edition*. USA: Williams and Wilkins company
- Indonesian Center for Biodiversity and Biotechnology. 2003. *List of Culture. First Edition*. Indonesia: Bogor
- Indriyati. 1987. *Mempelajari Aktivitas Antibakterial Biji Picung (Pangium edule Reinw) terhadap Beberapa Bakteri Pembusuk Ikan Secara In Vitro*. Skripsi Tidak diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Indriati, Rispayeni, dan Heruwati. 2006. Studi Bakteri Pembentuk Histamin pada Ikan kembung Peda Selama Proses Pengolahan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 1 (2): 117-123
- Ilyas. 1972. *Peranan Es dalam Industri Perikanan*. Lembaga Penelitian Teknologi Perikanan. Jakarta: Direktorat Jenderal Perikanan
- Ilyas. 1983. *Teknologi Refrigerasi Hasil Perikanan. Teknik Pendinginan Ikan*. Jakarta: C.V. Paripurna
- Jawetz. 1992. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Jakarta: ECG Penerbit Buku Kedokteran
- Jay. 1996. *Modern Food Microbiology*. 4th. London: International Thompson Publishing
- Juven. 1981. Changes in refrigerated Milk Caused by *Enterobacteriaceae*. *International Journal of dairy Science*. 64 (9): 231-138
- Emmawati, a. 1998. *Picung Ternyata Berkhasiat*. Harian Umum Republika. Hal 6
- Everist, S.L. 1974. *Nitrogenous Organic Compounds*. Poisonous plants of Australia. London: Angus & Robertson Publishers
- Fardiaz, S. 1989. *Analisis Pangan*. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor
- Fardiaz. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada

- Fardiaz. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada
- Fardiaz. 1995. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Agromedia
- Fahrudin. 2010. Karakteristik Sosial Ekonomi Masyarakat Pesisir. *Jurnal Pandecta*, 4 (1): 20-28
- Food Watch. 2004. Bahan Tambahan Ilegal-Boraks, Formalin Dan Rhodamin B. *Jurnal BPOM*: 1-3
- Food and Drug Administration. 2000. *Guidance for Industry*. U.S: U.S. Department of health and human Service FOA CDER
- Hengky. 2010. *Pengawet Alami Ikan Yang Murah Dan Efisien Melalui Fermentasi Selada*. PKM-GT. Bandung: Universitas Padjajaran
- Hendratmoko. 2010. Analisis Tingkat Keberdayaan Sosial Ekonomi Nelayan Tangkap Di Kabupaten Cilacap. *Jurnal Dinamika Sosial Ekonomi* 6(1): 1-17
- Haryono. 2005. Strategi Kelangsungan Hidup Nelayan. *Jurnal Berkala Ilmiah Kependudukan*, 7(2): 119-129
- Fogarty, W. M. 1983. *Microbial Enzymes and Biotechnology*. New York: Elsevier Science Publishing CO.INC
- Frazier, W.B., and Dennis C. Westhoff. 1998. *Food Microbiology*. Third Edition. New York: McGraw-Hill, Inc
- FAO. 1972. *Evaluation of Certain food Additives and the contaminant Mercury, Lead, Cadmium*. Geneva: Sixteenth Report of The join FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
- FAO, (2005). *Responsible use of antibiotics in aquaculture*. Rome: FAO Fisheries Technical Paper
- Fedriansyah, Andi Muhammad. 2008. *Evaluasi Kinerja Program Pemberdayaan Ekonomi Masyarakat Pesisir (PEMP) Di Kecamatan Tugu, Semarang*. Skripsi tidak Diterbitkan. Semarang : Universitas diponegoro
- Gembong T, 1994, *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Yogyakarta: UGM Press
- Girindra, A. 1998. *Biokimia*. Jakarta: Agromedia
- Habieb S. 2006. *Picung, pengawet alami ikan segar*, (Online), (<http://www.suara merdeka.com/cybernews>), diakses 7 Februari 2006
- Hadiwiyoto. 1993. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Jilid I. Liberty. Yogyakarta

- Hangesti, R.W. 2008. *Teknologi Pengawetan Ikan Kembung Segar dengan Menggunakan Bahan Alami Biji Picung (Pangium edule Reinw)*. Tesis S2 Program Studi Teknologi Kelautan Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor (IPB)
- Hardjo. Indrasti, Tajuddin. 1989. *Biokonveksi Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian*. Bandung: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB
- Heruwati. 2002. Pengelolaan Ikan Secara Tradisional; Prospek dan Peluang Pengembangan. *Jurnal Litbang Pertanian*. 21. (3): 78-82
- Hengky. 2010. *Pengawet Alami Ikan yang Murah dan Efisien Melalui Fermentasi Selada*. PKM-GT. Universitas Padjajaran. Jatinangor. Bandung
- Hidayati, I.P. 2009. *Pengaruh Lama Waktu Pengeringan dan Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi dan Uji Organoleptik Dendeng Ikan Sebagai Sarana Penunjang Materi Pengawetan dan Pengolahan Makanan dalam Matakuliah Mikrobiologi Pangan*. Tesis Tidak diterbitkan. Program Pendidikan Biologi Pascasarjana. Universitas Negeri Malang
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. Dan williams, S. T. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 10th edition. USA: Williams and wilkins company
- Hofston dan Wirahadikusumah. 1972. *Preservation Fish and Other Protein Rich Products by Lactic Acid Fermentation*. Kuala Lumpur: UNESCO/ICRO
- Husni, Elidahanum, Samah, dan Kiki, Apriliza. 2007. Pengawetan Ikan Segar dengan Menggunakan Biji Buah Kepayang (*Pangium edule Reinw*) dan Analisa secara Kualitatif. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, 12 (1): 45-49
- Jay. 2005. *The Influence of Fermentation on The Nutritive Value of Fish Product of South Asia*. Fish in Nutrition. FAO. 7: 180-200
- Jenie, S.L. 1995. Aktivitas Antimikroba dari Beberapa Spesies Lactobacillus terhadap Mikroba Patogen dan Perusak Makanan. *Buletin Teknologi dari Industri Pangan*. 7(2): 46-55
- Kaplan. 1976. *Methods in Enzymology*. Academic Press Inc. London
- Karthikeyan and Santosh. 2009. Study of Bacteriocin as a Food Preservative and the *L. acidophilus* strain as Probiotic. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8: 335-340
- Katzung, Bertram. 2004. *Farmakologi Dasar dan klinik Edisi VIII*. Terjemahan Bagian Farmakologi FK Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba medika

- Kenneth. 2009. Today University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology *Bacillus Coagulans*. (Online), (<http://www.textbook of bacteriology. Net>), diakses tanggal 7 Mei 2010
- Khotim. 2007. *Bagi Hasil Antara Pemilik Perahu, Pemilik Modal Dan Buruh Nelayan Menurut Hukum Islam Di Desa Kalibuntu Kraksaan Probolinggo*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Syari'ah. Universitas Islam Negeri (UIN)
- Kusnadi. 2007. *Jaminan Sosial Nelayan*. Yogyakarta: Lukis Pelangi Aksara Yogyakarta
- Kusumarwati. 2008. *The Examination of Staphylococcus aureus on Traditionally Processed Fish Product in Bangka Regency*. Journal of Fisheries Science, 3(1): 32-38
- Kuswanto, R.R.1988. *Proses-Proses Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Lade, H.S, chitanand, MP, Gyananath. G, Kadam T.A. 2006. Studies on Some Properties of Bacteriosins Produced By *Lactobacillus* Species Isolated From agro Based Water. *The Journal Of Microbiology*. 2 (1): 45-51
- Lakitan, benyamin. 1993. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada
- Laynurak. 2008. *Model Diversifikasi Usaha Masyarakat Pesisir Dan Implikasinya Terhadap Kesejahteraan Serta Kelestarian Sumber Daya Wilayah Pesisir Di Kabupaten Belu-NTT* . Disertasi Tidak Diterbitkan. Semarang: Universitas Diponegoro
- Litbang. 2007. Booklet Penyuluhan, (Online), (<http://jambi.litbang.deptan.go.id/ind>), diakses 10 Oktober 2011
- Mamar, Sulaeman. 2005. *Kebudayaan Masyarakat Maritim*. Palu: Tadulako University Press
- Marfu'ah dan Sukarianingsih.1993. *Kimia Organik Bagian V*. Malang: IKIP Malang
- Masduki. 1996. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang *Laveaca catechum* Terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *E.coli*. *Cermin Dunia Kedokteran*. 109: 21-24
- Misgiyarta. 2005. *Efektivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam pembuatan Produk fermentasi Berbasis Protein Susu Nabati*, (Online), (<http://www.panen. Litbang. Deptan.go.id/media>), diakses 11 mei 2011
- Mubyarto. 1984. *Nelayan dan kemiskinan. Studi Ekonomi Antropologi di Dua desa Pantai*. Jakarta: Penerbit Rajawali Press
- Muchtadi. 1994. *Ilmu Bahan Makanan*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB
- Muchtadi. 2010. *Pengaruh Pengolahan terhadap Nilai Gizi Pangan*. Bandung: Alfabeta

- Muwakhidah. 2008. Efek Berbagai Pengawet Alami Sebagai Pengganti Formalin Terhadap Sifat Organoleptik Dan Masa Simpan Daging Dan Ikan. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 9 (1): 1 – 14
- Masyamsir. 2001. *Penanganan Hasil Perikanan*. Tim Program Keahlian Budidaya Ikan Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta: Proyek Pengembangan Sistem dan Standar Pengelolaan SMK Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan
- Martoharsono. 1988. *Biokimia Jilid II*. Yogyakarta: UGM Press
- Montgomery. 1993. *Biokimia*. Terjemahan Ismadi. Yogyakarta: UGM Press
- Morales, Sierra, and Borquez. 2003. Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile, Antimicrobial Activity, and Biototoxicity Against *Artemia salina*. *Journal Chile Chemistry*, 48 (2): 56-67
- Muwakhidah dan Eni. 2008. Efek berbagai Pengawet Alami sebagai Pengganti Formalin terhadap Sifat Organoleptik dan Masa Simpan Daging dan Ikan. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* 9(1): 1-14
- Naufali, Jenie, Kusnandar, dan Rukmini. 2005. Aktivitas Antibakteri ekstrak bunga Kecombrang terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 16 2: 119-125
- Natsir, djide, Sartini. 2008. Isolasi, Identifikasi bakteri Asam laktat dari Kol (*Brassica oleracea* L) dan Potensinya sebagai anatagonis *Vibrio Harveyi*. *Jurnal ilmu Kelautan dan perikanan Torani*. Vol 18 (3). Universitas Hasanuddin: Makasar
- Nio, Oey Kam. 1989. Zat-Zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran* 58: 51-59
- Raccach, Backer, dan Mulnix. 1979. Potential Application of Microbial Antagonism to Extended Storage Stability of a flesh type food. *Journal Food Science* 44 (1): 43
- Rahmat A. 2006. *Kesan Pengawet dalam makanan*. <http://www.usm.com>. Diakses 6 Februari 2006
- Oktaviani, D. 2004. *Efektivitas Bakteriosin dan Lactobacillus Plantarum Terhadap Masa Simpan Fillet Nila Merah Pada Suhu Rendah*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Unpad. Jatinangor. Bandung
- Padmowihardjo. 1999. *Psikologi Belajar Mengajar*. Jakarta: Universitas Terbuka
- Padmowihardjo. 2004. *Menata Kembali Penyuluh Pertanian di Era Pembangunan Agribisnis*. Jakarta: Departemen Pertanian

- Parhusip, Adolf. 2001. Produksi Senyawa Antimikroba dari Beberapa Jenis Rempah-Rempahan Khas Sumatera Utara dan Aplikasinya sebagai Bahan Pengawet Pangan. *Jurnal Hayati* 7 (2): 10-18
- Pelczar, M.J. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press)
- Pelczar dan Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press
- Poerwosoedarmo. 1997. *Ilmu Gizi*. Jakarta: Dian Rakyat
- Purnomo, H. 1995. *Aktivitas Air dan Peranannya dalam Pengawetan Pangan*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Purwanto. 2008. Booklet, (Online), (<http://purwanto89.blogspot.com/2008/10/booklet.html>), diakses 14 Nopember 2011
- Qian. 2009. Screening for Lipase-producing *Enterobacter agglomerans* for Biodiesel Catalyzation. *African Journal of Biotechnology*, 8 (7): 1273-1279
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB
- Rodarte. 2011. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases and lipases. *International Journal Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62 (3): 597-635
- Rostini, Iis. 2007. *Peranan Bakteri Asam Laktat (Lactobacillus plantarum) terhadap Masa simpan Fillet Nila Merah pada Suhu Rendah*. Skripsi tidak diterbitkan. Bandung: Universitas Padjadjaran, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
- Saparinto. 2006. *Bahan Tambahan Pangan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Satria. 2002. *Dinamika Modernisasi Perikanan, Formasi Sosial Dan Mobilitas Nelayan*. Bandung: Humaniora Utama Press
- Satria. 2001. *Sosiologi Masyarakat Pesisir*. Jakarta: Pustaka Cidesindo
- Saanin. 1995. *Kunci identifikasi Ikan I*. Bandung: Penerbit Bina Cipta
- Saanin. 1995. *Kunci identifikasi Ikan II*. Bandung: Penerbit Bina Cipta
- Satmoko dan Harini. 2006. Pengaruh Bahasa *Booklet* Pada Peningkatan Pengetahuan Peternak Sapi Perah Tentang Inseminasi Buatan Di Kelurahan Nongkosawit, Kecamatan Gunungpati, Kota Semarang. *Jurnal Penyuluhan*, 2 (2) : 78-82
- Siswandono. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press
- Simanjuntak, H.T, B. 2004. *Penyalahgunaan Formalin Sebagai Pengawet Ikan, Mungkinkah Mencari Penggantinya?*. <http://perpustakaan POM. go.id>. Diakses 13 April 2011
- Susanto, dan Saneto. 2002. *Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian*. Surabaya: Bina Ilmu

- Syamsir. 2008. *Proses Pembusukan Ikan*, (Online), (<http://id.shvoong.com/exact-science>), diakses 23 Oktober 2011
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Penerbit Alumni 1999 Bandung
- SNI 01-2354.1-2006, [http://www.bsn.or.id/SNI% 2001-2354.1-2006.pdf](http://www.bsn.or.id/SNI%2001-2354.1-2006.pdf)
- SNI 02-2354.1-2006, [http://www.bsn.or.id/SNI% 2001-2354.1-2006.pdf](http://www.bsn.or.id/SNI%2001-2354.1-2006.pdf)
- SNI 03-2354.1-2006, [http://www.bsn.or.id/SNI% 2001-2354.1-2006.pdf](http://www.bsn.or.id/SNI%2001-2354.1-2006.pdf)
- SNI 04-2354.1-2006, [http://www.bsn.or.id/SNI% 2001-2354.1-2006.pdf](http://www.bsn.or.id/SNI%2001-2354.1-2006.pdf)
- Snoeks, Jos. 2006. *Oreochromis mossambicus*, (Online), (<http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=131>), diakses 15 September 2011
- Soekarto. 1985. *Penilaian Organoleptik untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian*. Barata Karya Aksara. Jakarta
- Sudian, S. 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan*. Jurnal InfoPOM Badan POM RI. Vol.9 No.2. ISSN 1829-9334
- Suhirman. 2011. Potential Application of Microbial Antagonism to Extended storage Stability of a flesh Type Food. *Journal Food Science*, 44 (1):43
- Syam A. F. 2006. *Asam Sianida*. <http://www.sriwijayapost.com>. Diakses 8 Februari 2006
- Sudarmadji, S.B. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta
- Sudrajat. 2001. *Analisis Kebijakan Pembangunan Perikanan*. Jakarta: Pusat riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan Departemen Perikanan dan Kelautan
- Suparno. 1992. Pembuatan Filet Ikan. *Kumpulan Hasil-hasil Penelitian Pasca Panen Perikanan*. Pusat Penelitian Perikanan. Jakarta. Hlm. 15-19.
- Suriawiria, U. 1980. *Mikrobiologi Lingkungan I Umum*. Angkasa. Bandung
- Suriawiria, U. 1980. *Pengawetan Ikan secara Biologis dan Peranan Bakteri Asam laktat (BAL) Indigenus*. Jakarta: Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

- Suriawiria, U. 1986. *Mikrobiologi Masa Depan Penuh Kecerahan Di Dalam Pembangunan. Kumpulan Beberapa Tulisan dari Unus Suriawiria*. Jurusan Biologi. ITB. Bandung. Hlm. 67-68.
- Suriawiria, U. 1995. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa. Bandung. 238 hlm.
- Tarigan. 1988. *Pengantar Mikrobiologi*. Jakarta: Dirjen Dikti
- Taufik, M. 2000. *Penentuan kadar asam lemak dan sianida serta kualitas minyak dari daging buah picung (Pangium edule Reinw)*. <http://digilib.itb.ac.id/go>. Diakses 8 Oktober 2008.
- Tadjuddin. 2010. *Program Pemberdayaan Ekonomi Masyarakat Pesisir (PEMP)*, (Online), (<http://tadjuddin.its.ac/mandar/prog-peemp.html.com>), diakses 26 Oktober 2011
- Tim PKMM UB. 2011. *Implementasi Metode Fermentasi Ensiling Pindang Sebagai Solusi Sehat Pengawetan Ikan Di Kampung Nelayan Puger Kabupaten Jember*. Malang: Universitas Brawijaya
- Uriawiria. 2006. *Sudah Sangat Mengkhawatirkan Pengawet Maut Untuk Pengawet Makanan*. <http://www.pikiranrakyat.com>. Diakses 9 Februari 2006
- Van den Ban dan H.S. Hawkins. 1999. *Penyuluhan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Volk dan Wheeler. 1990. *Mikrobiologi dasar Edisi 1*. Terjemahan Markham. Jakarta: Erlangga
- Volk dan Wheeler. 1990. *Mikrobiologi dasar Edisi 2*. Terjemahan Markham. Jakarta: Erlangga
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press
- Wallen. 1974. Polyhydroxialkanoate from Activated Sludge. *Journal Environment Science Tecnology* 8:576-579
- Wallen. 2007. Isolation of lipase producing *Citrobacter* sp. from olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *Journal Hazard Mater*, 149: 720-724
- Winarno. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Winarno, dan Fardiaz. 1984. *Pengantar Teknologi Pangan*. Jakarta: Gramedia
- Winarno dan Rahman, 1981. *Protein Sumber dan Peranannya*. Departemen Teknologi Hasil Pertanian. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama

- Yusra. 2008. Pengaruh pemberian Biji Picung (*Pangium edule Reinw*) terhadap Daya Awet Ikan Kembung Lelaki (*Rastrelliger canagurta*) Segar. *Jurnal Mangrove dan Pesisir* 8 (3): 46-55
- Yusuf, S. 2009. *Program Bimbingan Dan Konseling Sekolah*. Bandung: Rizqi Press
- Winarno, F.G. 1993. *Pangan Gizi, Teknologi, dan Konsumen*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 416 hlm.
- Winarno, F.G. 1994. *Sterilisasi Komersial Produk Pangan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama
- Widyasari, H. E, R.A. 2006. *Pengaruh Pengawetan Menggunakan Biji picung (*Pangium Edule Reinw*) Terhadap Kesegaran dan Keamanan Ikan kembung Segar (*Rastrelliger branchysoma Blkr*)*. Tesis IPB tidak diterbitkan. Bogor: IPB
- Yusra, Irawaty, Ida, Yogi. Syefri. 2008. Pengaruh Pemberian Biji picung (*Pangium Edule Reinw*) Terhadap Daya Awet Ikan kembung Lelaki (*Rastrelliger canagurta*). *Jurnal Mangrove dan pesisir*. Vol. VIII No. 3. Hal 46-56
- Zuhud, Evrizal. 2001. Aktivitas Antimikroba ekstrak kedawung (*Parkia roxburghii* G. don) terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal PATPI*, 12 (1): 6-9
- Zulaekah. 2009. *Efektivitas Pendidikan Gizi dengan Media Booklet terhadap Pengetahuan Gizi Anak SD*. (Jurnal Online), ([Http://Journal.unnes.ac.id/index.php/kemas](http://Journal.unnes.ac.id/index.php/kemas))

